

El comité organizador, ante la cantidad y calidad de pósters presentados, y ante la concurrencia masiva de estudiantes de los últimos años de carrera de pregrado, posgrado, becarios e investigadores junior, nombró un comité integrado por los Doctores O. Campetella, R. Cardoni, S.M. González Cappa, A. Katzin, V. Knez, E. Malchiodi, D. Salomón y S. Sosa Estani, para que evaluara y premiara, el contenido científico y la presentación de los posters de los grupos de jóvenes investigadores presentes.

Los dos mejores fueron premiados con un aporte monetario de \$ 500 (P1) y \$ 300 (Epi 26)

## RESÚMENES DE COMUNICACIONES

### Protozoos: P

#### **P1. Caracterización y clonado de la arginina kinasa de *Trypanosoma cruzi*. Primer Premio.** ALONSO G PEREIRA C, PAVETO M, FLAWIA M y TORRES H.

INGEBI-CONICET y FCEyN-UBA. Obligado 2490, 1428 Capital Federal.

El objetivo de este trabajo fue la caracterización bioquímica y molecular de la arginina kinasa (AK) de *Trypanosoma cruzi*. Esta enzima cataliza la síntesis del fosfágeno fosfoarginina que actúa como dador de fosfatos de alta energía para la rápida síntesis de ATP, cumpliendo una función análoga a la creatina kinasa de mamíferos. Epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* de la cepa Tulahuén 2 se cultivaron en medio LIT. Se midió actividad AK en una mezcla que contenía L-[2,3-<sup>3</sup>H]arginina 1mM y de 2-8 mg de proteínas. El producto se purificó utilizando columnas de Dowex AG1-X4 y se cuantificó en un contador de centelleo líquido. El clonado del gen de la AK se realizó mediante el rastreo en una biblioteca genómica construida en el fago lambda FIXII (Stratagene), utilizándose como sonda un producto de PCR. Se detectó una actividad AK citosólica, la cual se purificó parcialmente y se demostró su dependencia de L-arginina, ATP y Mg<sup>2+</sup> o Mn<sup>2+</sup> con una Km para L-arginina de 0.33 mM y para ATP de 0.31 mM. Se ensayaron distintos inhibidores de la enzima, siendo el más relevante la canvanina. Se encontró actividad AK en otras especies del género *Trypanosoma*, como también en otros trypanosomátidos. El gen de 1074 pb codifica para una AK de 357 aa y un peso molecular de 40 KDa, cuya actividad se demostró expresándolo en un sistema heterólogo. La importancia de este trabajo radica en que la AK es una enzima diferencial entre el parásito y el hospedador mamífero, y cumple una función vital para el parásito. Estas características convierten a la AK de *T. cruzi* en un potencial blanco terapéutico de utilización en la enfermedad de Chagas.

#### **P2. Avirulencia para ratones de una mutante de *Trypanosoma cruzi* (GP72) verificada mediante PCR y serología diferida.** BASOMBRIO MA<sup>1</sup>, MORA MC<sup>1</sup>, CIACCIO M<sup>1</sup>, NASSER J<sup>1</sup>, UNCOS DA<sup>1</sup> y CROSS G<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Patología Experimental, Fac. de Ciencias de la Salud, Univ. Nac. de Salta y <sup>2</sup>Lab. of Molecular Parasitology, Rockefeller University, EE UU.

La virulencia del *T. cruzi* está condicionada por una serie de funciones enzimáticas, mecánicas, de autoprotección y de replicación. Si bien estas funciones dependen de múltiples

genes, pudimos demostrar previamente, que la mutación de un solo gen, GP72, inducida por reemplazo génico dirigido, producía un cambio drástico en la virulencia: las Formas Resistentes a Complemento (FRC) de la cepa mutante eran incapaces de infectar ratones inmunocompetentes. Sólo en el 14% de los ratones inmunodeficientes (atímicos) se pudo demostrar infección temporaria. Verificamos la falta de virulencia mediante 2 técnicas más sensibles: la serología y el PCR, usando los primers N° 121 y 122, que amplifican un fragmento de 330 pb de ADN cinetoplástico repetitivo, con una técnica que detecta <1 parásito/ml de sangre. Dos grupos de ratones BALB recibieron inóculos de 10<sup>5</sup> FRC-Y ("wild type" grupo 1) ó 10<sup>5</sup> FRC-Yn (mutante, grupo 2). La presencia de infección se exploró mediante gota fresca (d.16, 19 y 21 pi), hemocultivo (d. 14, 22, 63, 97 pi), PCR (d. 91 pi), y serología con técnica ELISA (d.196 pi). Los resultados obtenidos (+/ratones estudiados; FRC-Yn versus FRC-Y) fueron: Gota fresca: 1/16 vs 9/18 p=0,008, Hemocultivo: 1/16 vs 18/19, p<10<sup>-7</sup>. PCR: 2/15 vs 11/14, p<10<sup>-6</sup>. Serología 1/12 vs 9/15, p<0,007. Hubo dos casos de infección por FRC-Yn. En uno los parásitos se pudieron aislar por hemocultivo y la presencia del gen GP72 se estudió por PCR. La morfología normal y la presencia del gen GP72 intacto indican que los casos excepcionales de infección no se deberían a una "revertante virulenta", ni a fenómenos de compensación, sino a una posible contaminación en los cultivos o inoculaciones. En conclusión, la mutación dirigida del gen GP72 (cepa Ynull) produce progenies avirulentas. Financiado por CIUNSA, CONICET y FONCYT. Agradecemos a F. Ramos y T.Nozaki.

#### **P3. Enteroparasitosis en el Departamento de Lavalle, Mendoza.** BONTTI S.

Laboratorio Hospital «Dr. Domingo Sicoli», Belgrano 415, 5539 Villa Tulumaya, Lavalle, Mendoza, 0261-4941049/65, clyse@lanet.com.ar.

El departamento de Lavalle se ubica al nordeste de la provincia de Mendoza y presenta características de zona semiárida donde en parte se presentan dificultades en la obtención de agua potable, y en las áreas de cultivo es frecuente emplear aguas con poco tratamiento sanitario para el riego. El objetivo de este trabajo es conocer la frecuencia de aparición de enteroparásitos en un laboratorio hospitalario. Desde setiembre de 1994 hasta el 31 de julio de 1999 se realizaron 794 exámenes coproparasitológicos seriados. Se recolectaron tres muestras día por medio durante siete días conservadas en

formol salino, que se procesaron por la técnica de Telemann modificada. Para detección de oxiuros se emplearon las técnicas de Graham con cinta engomada y de Mega con gasa recogida en formol salino. Se realizó observación directa entre porta y cubreobjetos (100X y 400X) con y sin solución de lugol. También se analizó un conjunto de 162 muestras para coprocultivos con sospecha de diarrea aguda empleando la coloración de Ziehl-Neelsen (ZN) para la búsqueda de *Cryptosporidium*. Del total de muestras analizadas 517 fueron positivas para algún parásito, lo que representa un 65,1 %. Los hallazgos fueron los siguientes (% sobre el total de positivos): Protozoos: *Blastocystis hominis* (52,6%), *Giardia lamblia* (42,7%), *Endolimax nana* (20,5 %), *Entamoeba coli* (19,3%), *Chilomastix mesnili* (2,1%), *Iodamoeba bustchli* (2,1%), *Trichomonas hominis* (0,97%), *Enteromonas hominis* (0,38 %), *Dientamoeba fragilis* (0,2 %); Cestodos: *Hymenolepis nana* (4,8 %), *Taenia spp.* (1,3%); Nemátodos: *Enterobius vermicularis* (16,3 %), *Ascaris lumbricoides* (0,38 %), *Trichiuris trichiura* (0,38 %), *Strongyloides stercoralis* (0,2%). De las muestras analizadas por ZN se obtuvo un 10,5% de positividad para *Cryptosporidium sp.* Los resultados muestran una importante presencia de enteroparasitos, en especial aquellos que se transmiten por la vía fecal-oral y por el agua. Se concluye en la necesidad de realizar un estudio de prevalencia en población general para evaluar el impacto de las enteroparasitosis en el estado nutricional de los niños y para diseñar estrategias de prevención en el área de influencia del hospital.

#### P4. Hallazgo de *Blastocystis hominis* en Diarreas. BONTTI S.

Laboratorio Hospital «Dr. Domingo Sicoli», Belgrano 415, 5539 Villa Tulumaya, Lavalle, Mendoza, 0261-4941049/65, clyse@lanet.com.ar.

En los últimos años *Blastocystis hominis* se ha convertido en un hallazgo común en pacientes con cuadros de diarrea sin que esté definido claramente su papel como enteropatógeno. El objeto de este trabajo es conocer la frecuencia de aparición de *B. hominis* en pacientes con sintomatología gastrointestinal a los que se les solicita coprocultivo para búsqueda de gérmenes enteropatógenos. A todas las muestras de materia fecal destinadas a cultivo provenientes de pacientes con diagnóstico de diarrea se les realizó una observación directa entre cubreobjetos y portaobjetos sin coloración, con Azul de Metileno para búsqueda y cuantificación de leucocitos polimorfonucleares y solución de Lugol para identificación de elementos parasitarios, empleando objetivos fuertes y aumentos de 100X y 400X. Se analizaron 1134 muestras entre enero de 1995 y julio de 1999, encontrándose parásitos en 209 (18,4%). En 106 (50,7%) de estas muestras positivas se observó *B. hominis* (72 veces como único hallazgo, 24 veces acompañado por otro parásito y en seis ocasiones junto a dos parásitos). La prevalencia de *B. hominis* en la muestra fue de 9,3%. La forma predominante fue la vacuolar en un 70% de las observaciones. Las edades de los pacientes oscilaron entre 3 meses y 72 años. Solo en ocho de los 72 hallazgos de *B. hominis* como único parásito se aislaron gérmenes enteropatógenos, mientras que en las 64 observaciones restantes se observaron leucocitos en el 29 %. Los grupos etarios donde fue más frecuente se ubicaron por debajo de 9 años y por encima de 20 años. Si bien la muestra analizada no permite aseverar que la presencia de *B. hominis* se relacionara directamente con los síntomas por no haber estudiado exhaustivamente todos los posibles enteropatógenos, la prevalencia del 9,3% en los exámenes en fresco así como su amplia participación dentro de los enteroparásitos encontrados en coprocultivos de rutina permi-

te suponer que en caso de hallarse sin otro enteropatógeno presente y con sintomatología acompañante debe ser considerado como potencialmente patógeno, en especial si existe alguna condición de inmunosupresión como por ejemplo la desnutrición en los niños.

#### P5. Frecuencia de *Blastocystis hominis* y *Giardia lamblia* en los coproparasitológicos realizados entre 1989 y 1999. REA MFJ, BORDA CE, ROSA JR y BENITEZ O.

Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales (CENPETROP), Facultad de Medicina, UNNE. Santa Fé 1432, 3400 Corrientes, Argentina.

En la Argentina no existe actualmente ningún programa de prevención y control de las infecciones parasitarias intestinales. Solo pueden hacerse estimaciones imprecisas, en razón de que las tasas notificadas de prevalencia de protozoos, como *Giardia lamblia* y *Blastocystis hominis*, no suelen ser representativas de la población. Presentamos este estudio con el objetivo de dar a conocer la frecuencia con que aparecían estos protozoarios en la década pasada. Los datos corresponden a un grupo de personas de ambos sexos y todas las edades, de diferente nivel socio-económico, que padecían de enfermedad intestinal y que acudieron al CENPETROP entre febrero de 1989 y 1999. Se colectaron muestras de heces de 793 personas, durante seis días en frascos de plástico (30ml), conteniendo 10 ml de formol al 5%. Las muestras se concentraron con la técnica de sedimentación espontánea de Hoffman, Pons y Janer y fueron examinados al microscopio, previa adición de Lugol. En total se hallaron positivas 226 (29%) de las muestras examinadas, con *B. hominis* y 135 (17%) con *G. lamblia*. Estos protozoarios se encontraron en los diferentes grupos etarios. Las personas de ambos sexos en conjunto, comprendidos entre los 20 y 49 años, la más productiva de la vida, se contaron entre las más parasitadas, el 49% (111) con *B. hominis* y el 35% (47) con *G. lamblia*. En los menores de 4 años, de ambos sexos, la giardiasis alcanzaba al 25% (33) y la blastocytosis solamente al 8%. Este estudio es un ejemplo de lo que en epidemiología se conoce como el "fenómeno del iceberg". Esto surge de la comparación de la pequeña parte visible del iceberg, los casos clínicos, y la gran masa sumergida de proporciones desconocidas de las personas con infecciones asintomáticas.

#### P6. Secuenciación del gen de la chisten proteinasa en cepa virulenta (Tulahué) y atenuada (TCC) de *Trypanosoma cruzi*. CIACCIO M<sup>1,2</sup>, ANELLO L<sup>1</sup>, PALLA F<sup>1</sup>, PADILLA M<sup>2</sup>, NASSER JR<sup>2</sup> Y BASOMBRÍO MA<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Istituto di Biologia dello Sviluppo, CNR, Via Ugo La Malfa 153, 90146 Palermo, Italia. <sup>2</sup>Laboratorio de Patología Experimental, Universidad Nacional de Salta, Calle Buenos Aires 177, 4.400 Salta.

Utilizando técnica PCR pudimos amplificar, clonar y secuenciar por entero el gen de la cruzipaina, la cistein-proteinasa principal del *T. cruzi*, que juega un rol importante en la propagación del parásito en los vertebrados. Se analizó una cepa virulenta (Tulahuen-TUL) y un derivado atenuado (TCC) por pasaje prolongado (20 años) in vitro. La comparación de las secuencias entre las dos cepas puso en evidencia estos datos: a) el gen clonado comprende 1422 pares de bases desde el triplete inicial ATG y el de terminación TGA. b) Entre la cepa atenuada TCC y la cepa virulenta TUL se evidencian 37 mutaciones. c) En la cepa TCC el contenido en GC es de 895 pb y el contenido en AT es de 526 pb, así como en la cepa TUL el contenido en GC es 901 pb y el contenido en AT es

521 pb. El producto proteico del gen analizado está constituido por 473 aminoácidos, evidenciándose entre las dos cepas 20 cambios. Comparando la composición en aa de las dos cepas, TUL y TCC, con la secuencia de cruzipaina estudiada por el grupo de JJ Cazzulo (Gene Bank accession: A45629), se evidencian 15 cambios en la cepa atenuada y solamente 4 cambios en la cepa virulenta. Estos datos se repiten analizando otras 2 secuencias aminoácídicas de la proteína en examen que están publicadas en el Gene Bank (accession: TCU41454, M84342). Estos estudios preliminares nos indican evidentes diferencias entre las dos cepas. Si bien estos cambios podrían concordar con hallazgos de western blot y actividad gelatinolítica (Vilma Duschak, com.pers.), es necesario analizar aún más cepas y genes para saber si las diferencias encontradas superan o no a las inter-poblacionales del *T. cruzi*. Financiación: CNR, Italia, CONICET, CIUNSA. Agradecemos al Dr. JJ Cazzulo por su orientación.

**P7. Detección del gen que codifica para la proteína F29 del *Trypanosoma cruzi*. Aplicación en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.** CRAGNOLINO M, VELÁZQUEZ E, MALAGRINO N Y RUIZ AM.

Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chaben" ANLIS Malbrán Av. Paseo Colón 568, 1063 Buenos Aires

La baja parasitemia en la enfermedad de Chagas crónica, la necesidad de la detección precoz en la transmisión connatal y el monitoreo del tratamiento hacen necesario la implementación de métodos diagnósticos altamente sensibles como PCR. Se ha informado la utilización de cebadores BP1- BP2 que flanquean todo el marco de lectura del gen, de localización nuclear, que codifica para la proteína F29 de *T. cruzi*. Estos cebadores amplificaron también ADN genómico de *Trypanosoma rangeli*. En el presente estudio se han optimizado las condiciones para la amplificación por PCR del gen que codifica para la proteína F29 diseñándose nuevos cebadores F291-F292 correspondientes a zonas de baja homología con la proteína flagelar TrCaBp de *T. rangeli*. Se amplificó un fragmento de 540 pb, con una sensibilidad de 10fg para la detección de ADN de *T. cruzi* cepa Tulahuén. También se obtuvo señal a partir de sangre infectada artificialmente detectándose 5 parásitos por ml. Para la amplificación de *T. rangeli* fueron necesarios 50 ng de ADN cantidad difícilmente hallada en muestras humanas. El perfil electroforético fue diferente obteniéndose para *T. rangeli*, dos bandas de igual intensidad, la de 500 pb y otra de menor tamaño quizás debida a delecciones del gen. Estas diferencias son más acentuadas con relación a BP1/ BP2 y constituye una importante herramienta para el diagnóstico diferencial de estos tripanosomátidos que pueden compartir zonas geográficas. En estudios preliminares se han obtenido resultados promisorios, en pacientes crónicos, en hijos de madres chagásicas y en pacientes tratados.

Este trabajo recibió financiación de ANLIS MALBRAN (Argentina), de la RTPD network (SIDA/SAREC)

**P8. Estudio preliminar de la capacidad del antígeno SAPA de *Trypanosoma cruzi* para discriminar infecciones chagásicas de aquellas leishmaniásicas.** DAVIES C, MARCO JD, NASSER JR y BASOMBRÍO MA.

Cátedra de Química Biológica, Fac. de Cs. Naturales y Laboratorio de Patología Experimental, Fac. de Cs. de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires 177, 4400 Salta.

El Noroeste de la provincia de Salta es una zona endémica para la infección por *T. cruzi* y *Leishmania sp*, que producen

reacciones serológicas cruzadas y no permiten un diagnóstico exacto en infecciones mixtas, frecuentes en esta región. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad diagnóstica del antígeno SAPA, específico de *T. cruzi*, para discriminar infecciones mixtas en sueros caninos provenientes de zonas endémicas para infección chagásica y leishmaniásica. Mediante ELISA se analizaron sueros de 40 perros, de los cuales 7 presentaron parasitología positiva y 33 negativa para *Leishmania sp*. Todos los sueros fueron enfrentados a mezclas de antígenos de *L. pifanoi* y *T. cruzi*, y a los antígenos recombinantes GST-SAPA y GST solo. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

	Antígenos				
	L. pifanoi	T. cruzi	GST-SAPA	GST solo	
Sueros	+/-	+/-	+/-	+/-	
Totales	40	7 / 40	7 / 40	5 / 40	1 / 40
<i>Leishmania</i> (P+)	7	7 / 7	7 / 7	2 / 7*	1 / 7*
<i>Leishmania</i> (P-)	33	0 / 33	ND	3 / 33	0 / 33

P= parasitología. \*Ninguno de los sueros positivos para GST-SAPA lo es para GST solo.

El presente trabajo demuestra que el antígeno SAPA es un indicador potencial de infección chagásica asociada con leishmaniasis parasitológicamente demostrada en perros. Como estudio confirmatorio, planteamos el análisis con PCR utilizando primers específicos de kDNA de *T. cruzi* a los dos sueros con resultado positivo frente al antígeno SAPA.

Subsidiado por el Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta.

**P9. Actividad tripanocida *in vitro* del Metoprene, análogo de la hormona juvenil.** ESTEVA M, RUIZ AM y STOKA A.

Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chaben" / ANLIS Malbrán. Av. Paseo Colón 568 1063 Buenos Aires y Delegación Sanitaria Federal (Mendoza).

La búsqueda de nuevas drogas es necesaria, no sólo para el tratamiento de pacientes chagásicos sino para la esterilización de la sangre a transfundir. La utilización de derivados de la Hormona Juvenil (HJ) y del Fenoxicarb sobre *T. cruzi* mostró disminución del crecimiento de epimastigotes (Schvartzapel 1995, Stoka 1996) y efecto lítico sobre tripomastigotes sanguíneos (Fichera 1995). En este trabajo se ensayó la capacidad del compuesto isoprénico, metoprene, de lisar *in vitro* al *T. cruzi*. Sangre de ratón infectado con la cepa Tulahuén, stock Tul 2, fue incubada con diferentes concentraciones de Metoprene, durante 24 horas a 4°C. Con 100,125 y 150 mM de Metoprene se observó lisis total de tripomastigotes. Para confirmar la ausencia de parásitos se inocularon ratones BALB/c lactantes con sangre tratada con estas concentraciones de Metoprene. Los animales controles que recibieron parásitos tratados con el diluyente utilizado mueren el día 12 post-infección. En los animales inoculados con 150 mM no se detectó parasitemia mientras que con 125 mM sólo se detectó en el 50% de los animales y con 100 mM todos los ratones mueren entre los días 23 y 26 post-infección. Los ratones sobrevivientes después de 30 días, fueron sacrificados y los homogenatos de corazón, hígado y bazo y sangre, fueron inoculados en ratones de 7 días los cuales no mostraron parasitemia detectable hasta el día 60. Los resultados sugieren que el Metoprene, droga de baja toxicidad oral, utilizada como larvicida y en la alimentación de

animales para control de moscas (Siddall 1976) y otras drogas relacionadas con la HJ podrían probarse como aditivos en la esterilización de bancos de sangre. Paralelamente se estudia el mecanismo de acción de los compuestos utilizados con el objeto de optimizar su eficacia.

Financiado por: ANLIS Malbrán, CONICET y la RTPD network (SIDA/SAREC).

**P10. Demostración de *Trypanosoma cruzi* en poblaciones peridomésticas de *Triatoma infestans* y *Triatoma guasayana* de La Rioja.** LAURICELLA MA<sup>1,2</sup>, STARIOLO RL<sup>3</sup>, GÜRTLER RE<sup>1,4</sup> y SEGURA EL<sup>1</sup>.

Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) Dr. Carlos G. Malbrán, Av. Velez Sarsfield 563, 1281 Buenos Aires; <sup>2</sup> Inst. Nacional de Producción de Biológicos-ANLIS; <sup>3</sup> Servicio Nacional de Chagas; <sup>4</sup> Depto. de Biología, FCEN-UBA.

La prevalencia de *T. cruzi* en poblaciones peridomésticas de *T. infestans* y de otros triatomíneos parece ser muy baja en la Argentina, pero existen muy pocos datos recientes publicados. Los flagelados hallados en preparados frescos de heces fueron identificados morfológicamente como *T. cruzi*, pero esto no se verificó usando criterios biológicos. Con estos objetivos se capturaron triatomíneos por hora-hombre en peridomicilios de 363 viviendas rurales habitadas de los Dptos. Belgrano y Chamental (La Rioja) en abril de 1999. Se examinaron a 400X las heces diluidas y mezcladas de cada 3 triatomíneos vivos. Los triatomíneos infectados fueron disecados en condiciones estériles para extraerles la ampolla rectal, realizar cultivos (Nutrient agar/sangre/Brain Heart Infusion) e inoculaciones y subinoculaciones a lotes de 3 ratones Balb-C lactantes por triatomíneo. Se determinó la parasitemia periódicamente, y se realizó serodiagnóstico (por ELISA) y xenodiagnóstico (4 ninfas III de *T. infestans* por ratón) al mes p.i. Se sacrificó a los ratones parasitéticos, y con la sangre y homogenatos de órganos se realizaron hemocultivos y subinoculaciones a ratones lactantes para futuros estudios anatomopatológicos. Sólo 9 (0,6% de 1.481) *T. infestans* y 2 (2,3% de 86) ninfas V de *Triatoma guasayana* poseían flagelados indistinguibles de *T. cruzi* al microscopio. No se halló *T. cruzi* en 48 *Triatoma garciabesi*, 6 *Triatoma platensis*, y 2 *Triatoma eratyrusiformis*. Se hallaron *T. cruzi* móviles, pero generalmente escasos, en 7 triatomíneos. En resultados preliminares, se aisló *T. cruzi* por uno o más métodos en 3 de 7 *T. infestans*. En una ninfa de *T. guasayana* infectada se obtuvieron cultivos de ampolla rectal positivos; parasitemia, serología y xenodiagnósticos positivos en los ratones inoculados, y parasitemia y hemocultivos positivos en los subinoculados. Este trabajo confirma que los triatomíneos peridomésticos son una fuente marginal de *T. cruzi*, y demuestra por primera vez mediante criterios biológicos que los *T. guasayana* peridomésticos se hallan infectados por *T. cruzi*.

**P11. Parámetros bacterianos como indicadores de contaminación parasitaria en aguas superficiales.** HAYE MA, GILLI MI, GOMEZ P, NEPOTE A, LURA C, ABRAMOVICH B.

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas-UNL-Ciudad Universitaria, Paraje el Pozo-3000 Santa Fe- Pcia. Santa Fe.

Introducción: El aumento progresivo de enfermedades parasitarias de origen hídrico en la población así como la dificultad operativa de la detección de parásitos, nos ha llevado a plantearnos como objetivo la búsqueda de posibles correlacio-

nes con otros parámetros de contaminación de origen fecal, a fin de lograr predecir su presencia en función del aumento de estos últimos. Metodología: Los parásitos investigados en 31 muestras de agua superficial, mediante la utilización de anticuerpos monoclonales fueron *Giardia* (G) y *Cryptosporidium* (C), mientras que los indicadores bacterianos fueron: coliformes totales (CT), coliformes termotolerantes (CTt), *Escherichia coli* (*Ec*), *Enterococcus spp* (*En*) y *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps*). Se aplicó el logaritmo a las variables analizadas, obteniéndose así un ajuste log normal; calculando luego las matrices de correlación mediante el coeficiente de Pearson. Resultados:

	AguasRecreacionales. n=21		Fuente de Agua Potable. n=10	
	Media geom.	Rango	Media geom.	Rango
CT (NMP/100ml)	18.026	93-110.000	2.302	240-11.000
CTt (NMP/ 100ml)	630	23-9.300	53	9-1.100
<i>Ec</i> (NMP/ 100ml)	123	2-2.400	18	2-460
<i>En</i> (NMP/100 ml)	20	2-460	6	2-23
<i>Ps</i> (NMP/100ml)	123	9-2.400	28	7-460
Cryptosporidium*	360	71-1817	138	0-539
<i>Giardia</i> **	21	0-469	4	0-65

\*Ooquistes/100 lt de agua superficial- \*\*Quistes/100 lt de agua superficial.

Se halló correlación significativa al nivel 0,01 entre *Ec* y C (r:0,487), *Ec* y G (r: 0,467), *Ps* y G (r:0,602). Al nivel 0,05 entre C y G (r:0,448), CTt y C (r: 0,417), CTt y G (r:0,382), *En* y C (r:0,431) y *Ps* y G (r:0,365). Conclusión: Según las correlaciones halladas, cuando aumenta la contaminación fecal, se incrementa la posibilidad de que los protozoarios estén presentes en el agua.

**P12. *T. cruzi*: factores estimulantes de la metacicloogénesis en el intestino de *Triatoma infestans*.** FRANK FM<sup>1</sup>, LAMMEL E<sup>2</sup>, CAFFARO CE<sup>1</sup>, BELAUNZARAN L<sup>2</sup>, ISOLA ELD<sup>2</sup>, MALCHIODI EL<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>IDEHU (CONICET-UBA), Inmunología, FFyB, UBA. <sup>2</sup>Depto de Microbiología, FM, UBA.

Se ha demostrado que el extracto soluble (ES) de intestino de *Triatoma infestans* y un péptido derivado de a<sup>g</sup>globina, aislado a partir del mismo, estimulan la diferenciación *in vitro* de epimastigotes de *T. cruzi* a tripomastigotes metacíclicos. La menor porción de globina capaz de producir el máximo efecto en ausencia del ES es un péptido de 2,4 kDa y 19 aminoácidos (P19), el cual reproduce sólo parcialmente el efecto del ES, sugiriendo la presencia de otros factores necesarios para la morfogénesis. Con el fin de estudiar la necesidad de estos factores se preparó un suero anti-P19, conjugando dicho péptido a KLH e inoculándolo a conejos de la cepa New Zealand. Con las g-globulinas obtenidas de los sueros de conejos se realizaron ensayos de inhibición de la diferenciación cultivando los epimastigotes en presencia de ES preincubado con las g-globulinas. Por otra parte y con el fin de identificar los factores metacicloogénicos se obtuvieron fracciones de ES según sus pesos moleculares empleando diferentes métodos de separación. Utilizando membranas de filtración con diferente tamaño de poro se obtuvieron dos fracciones complejas: 1) conteniendo las proteínas comprendidas entre 10 y 3 kDa y 2) proteínas menores a 3 kDa. Comprobamos que la fracción 1 inducía un 70% de diferenciación mientras que la fracción 2, al igual que el ES, inducía un 60% de diferenciación. Por otra parte reali-

zamos una separación por exclusión molecular empleando una columna de Superosa 12 para FPLC con la que obtuvimos nueve fracciones de diferentes pesos moleculares. Los ensayos mostraron que en la fracción VII, que incluye componentes menores de 1kDa, se encontraba la mayor capacidad metaciclógena al promover la diferenciación del 72% de los epimastigotes a tripomastigotes metacíclicos. Nuestros resultados preliminares sugieren la presencia de factores distintos a P19 que podrían actuar en conjunto estimulando la metaciclógenésis.

**P13. Infección *in vitro* de vellosidades placentarias humanas por *Trypanosoma cruzi*: Estudio de la actividad fosfatasa alcalina y su función como receptor de IgG.**  
LIN S, SARTORI MJ, FABRO SP DE.

*Inst de Biología Celular y II Cátedra de Histología, Emb y Gen. Fac. Cs. Médicas. UNC. Ciudad Universitaria 5016 Córdoba. Argentina. E-mail: slin@cmefcm.uncor.edu.*

La FAP (fosfatasa alcalina placentaria) disminuye su actividad en plasma y placenta de embarazadas chagásicas. Esta glucoproteína ha sido propuesta como receptor de IgG en la placenta. La cantidad de IgG traspasada a sangre fetal sería importante para la posterior evolución de la enfermedad congénita. En el presente trabajo se estudia la receptividad de IgG en placentas infectadas con *T. cruzi* y se lo relaciona a estudios sobre la presencia y actividad de FAP. Se cultivaron vellosidades placentarias con tripomastigotes de *T. cruzi*. Se incubaron cortes de placentas infectadas, homogeneizados de vellosidades placentarias y medios de cultivo con IgG. Se detectó la unión a IgG mediante inmunohistoquímica y ELISA. La actividad bioquímica de FAP fue detectada en cortes homogeneizados y medios de cultivo. En las placentas co-cultivadas con *T. cruzi* la actividad FAP disminuyó en el medio de cultivo y en el homogeneizado en un 41% y 43% respectivamente. Anticuerpos anti FAP marcan más intensamente algunas áreas del control que en cocultivos con parásito. Incubaciones del homogeneizado y medios de cultivo con IgG o proteína no específica (albúmina) no muestran diferencias en la actividad FAP. Diferentes concentraciones de FAP purificada incubadas con IgG muestran una relación directa entre la concentración de FAP y la receptividad de IgG. Muestras con igual nivel proteínico no presentaron diferencias significativas en la receptividad IgG con ELISA o inmunohistoquímica. Los resultados sugieren que la FAP posee capacidad para unirse con IgG y la unión con la inmunoglobulina no altera su actividad bioquímica. Las placentas controles y co-cultivadas con tripomastigotes muestran diferencias en la actividad específica de FAP pero no se detectaron diferencias significativas en su receptividad para IgG, lo que se debería a la presencia de otros receptores para la IgG diferentes a la FAP.

**P14. Aplicabilidad del hemocultivo como método preferencial para mejorar la detección de la Enfermedad de Chagas congénita.** MORA MC, SÁNCHEZ NEGRETTE O, MARCO JD, SEGURA MA, RAMOS F, UNCOS DA, NASSER JR, CIACCIO M Y BASOMBRÍO MA.

*Laboratorio de Patología Experimental, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Calle Buenos Aires 177, 4400 Salta.*

Aún interrumpiéndose totalmente la transmisión vectorial de *T. cruzi*, las madres ya infectadas seguirán dando a luz recién nacidos con infección congénita por varias décadas. En la provincia de Salta se detecta en forma esporádica y la técnica utilizada es el microhematocrito. Por este motivo se

ha llevado a cabo un estudio prospectivo, aplicando dos técnicas parasitológicas y serología en forma sistemática, en hijos de madres chagásicas. Estas deben ser serológicamente positivas con dos técnicas (HAI y ELISA o TIF). Las muestras de sangre se obtienen de cordón umbilical, o de punción venosa de niños menores de 2 meses. Las técnicas parasitológicas utilizadas son: de detección inmediata el microhematocrito (MH), y de detección tardía el hemocultivo (HC). Así es posible conocer los porcentajes de detección de cada técnica individualmente y en conjunto. En 133 muestras estudiadas hasta la fecha los resultados fueron:

Técnicas	Positivos	Total estudiado	%
MH	2	123	1,5
HC	7	133	5,2

El % de detección de infección congénita es de 5,2% con esta metodología para la población estudiada. La sensibilidad de cada técnica individual se comparó con el total del conjunto de técnicas estudiadas, resultando de 28,5% para el MH y 60% para el HC. Así concluimos que el hemocultivo es un buen método, sensible, económico y adaptable a hospitales - cabecera en la provincia. Subsidiado por FONCYT, CIUNSA y Min. de Educ. Prov. Bs. As. Agradecemos a: las Residencias de Tocoginecología y Neonatología y al Serv. de Serología del Hosp. Materno-Infantil de Salta, Centro de Salud N° 15 y Hosp. del interior de la Prov. de Salta.

**P15. Efecto de 3 extractos crudos de *A. annua* sobre la visibilidad del kinetoplasto del *T. cruzi* en cultivos *in vitro*.**  
OPPEZZO JA, MARTINEZ RA, MIGLIETTA HF.

*C.I.E.N., Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas, UNL. Paraje El Pozo, 3000 Santa Fe.*

La O.M.S. mantiene la invitación de buscar compuestos naturales para el tratamiento de las enfermedades tropicales. En el tratamiento de la malaria es de antiguo conocimiento el empleo de extractos de *Artemisa*. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de diferentes extractos de planta entera de *A. annua* sobre cultivos *in vitro* de *T. cruzi*, cepa T2 en medio CIEN. Los extractos se adicionaron al medio de cultivo, al comienzo del ensayo, a los niveles de 5; 20; 50; 100; 150; 200 y 250 mg res. seco/L. Los cultivos, con una densidad inicial de  $10^7$  cél/ml, se mantuvieron en agitación a 28 °C durante 96 h. Se determinó la densidad celular en función del tiempo y por coloración en extendidos, el kinetoplasto. Los resultados muestran que a 5,00 mg res. seco/L el extracto hidroalcohólico detiene la multiplicación celular y el kinetoplasto es visible en el 95%; la infusión estimula la multiplicación celular y el kinetoplasto se detecta en el 95%, mientras que para el extracto con reflujo el 15% de las células no presentan kinetoplasto visible. A 20,0 mg res. seco/L los hidroalcohólicos deprimen el desarrollo y el 93% de las células presentan kinetoplasto visible; en los extractos con reflujo el 10% de las células no presentan kinetoplasto visible. Para 50,0; 100,0; 150,0; 200,0 y 250 mg res. seco/L es el extracto de infusión con reflujo el que presenta las mayores variaciones, donde el número de células sin kinetoplasto visible varió entre el 10% y el 30% en relación directa con la cantidad del extracto adicionado. El cultivo testigo, con el agregado del solvente de extracción, presenta el 98% de células con kinetoplasto. Se concluye que: \*Diferentes formas de extracción presentan diferentes efectos sobre el *T. cruzi*. \*Los extractos hidroalcohólicos registran efectos sobre la multiplicación celular. \*Los extractos por infusión afectan la visibilidad del kinetoplasto, en relación directa con la concen-

tración, a partir de los 20,0 hasta los 250,0 mg res. seco/L para la infusión con reflujo.

**P16. Efecto de distintos extractos vegetales sobre la cepa T0 de *T. cruzi*.** TEDESCHI FA, OPPEZZO JA, MARTINEZ RA, MIGLIETTA HF.

*Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, U.N.L., Pje. El Pozo 3.000 Santa Fe.*

En trabajos anteriores informamos de los efectos de extractos vegetales en seres superiores sanos o con patologías espontáneas. En este trabajo informamos los efectos de la adición al medio de cultivo de la cepa T0 de *T. cruzi* de diferentes extractos vegetales. Se realizaron extractos hidroalcohólicos al 30% v/v de la parte vegetativa de *A. annua*, *C. coffeoides*, *M. azedarach*, *P. mayor*, *R. officinalis*, *E. critagallis*, *P. boldus*, *B. crispa*, *O. europea*, *B. candicans* y bulbos de *A. sativum*. Se determinaron los solubles totales y se normalizaron a 5.0 g res.sec./l. Los extractos se adicionaron al medio de cultivo CIEN a las concentraciones de 5.0 mg res.sec./l y 20.0 mg res.sec./l. En dichos medios se realizaron cultivos monofásicos agitados de la cepa Tuluahúen 0 (T0) de *T. cruzi*. Se evaluó la densidad celular en función del tiempo y los resultados se compararon con cultivos testigos de la misma cepa a los que se le adicionó el solvente de los extractos. Los resultados muestran que los extractos de *A. annua*, *P. boldus*, *B. crispa* y *E. Cristagalli* poseen un efecto depresor del crecimiento celular asociado a la concentración. Los extractos de *A. sativum*, *C. coffeoides* y *B. candicans* presentan un efecto positivo del desarrollo en relación inversa a la concentración. Para *M. azedarach* y *P. mayor* el efecto estimulante del desarrollo celular se encuentra relacionado en forma directa a la concentración. El extracto de *O. europea* no evidencia efecto sobre el desarrollo celular. Conclusión:\* Los extractos de diferentes vegetales presentan efectos positivos o negativos del desarrollo del *T. cruzi* en cultivos monofásicos agitados.\*El efecto no depende necesariamente de la concentración del extracto.\*Existen extractos que no manifiestan efecto sobre la multiplicación celular.

**P17. Colangitis esclerosante asociada a microsporidiosis y coccidiosis.** VELÁSQUEZ JN, CARNEVALE S, MARIANO M, CHERTCOFF A, IBAÑEZ C, BOZZINI JP.

*Hospital «Dr. Francisco J. Muñiz». ANLIS «Dr. Carlos G. Malbrán»*

Las anomalías de las vías biliares han sido reconocidas como complicación en los pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana. El propósito de esta presentación es la descripción de pacientes con SIDA y colangitis asociada a microsporidiosis y/o coccidiosis. Los sujetos estudiados incluyeron seis pacientes adultos con SIDA, manifestaciones digestivas y patrón humoral de colestasis con ecografía abdominal (EA) con anomalías de las vías biliares. A todos se les efectuó colangiografía resonancia (CR). Los métodos invasivos de diagnóstico incluyeron colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) y videoesofagogastroduodenoscopia (VEDA). Las muestras de biopsia de papila, duodeno y duodeno peripapilar se procesaron utilizando las técnicas histológicas de rutina y parte de ellas se conservó con el fijador de Karnovsky, se colorearon con Azur II y posteriormente se procesaron y observaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Las muestras de materia fecal concentradas se colorearon con las técnicas de Kinjoun y Tricrómica. La edad promedio de los pacientes fue de 31 años (rango: 24-56). El dolor abdominal y la diarrea crónica

fueron los síntomas más frecuentes (5/6). El recuento de CD4 fue  $< 100/\text{mm}^3$  en todos los casos. Las anomalías de las vías biliares fueron detectadas en la EA y CR (6/6) y en la CPRE (3/6). Con estos métodos se diagnosticó colangitis esclerosante en todos los pacientes, uno asociado a papilitis estenosante. Se identificaron microorganismos en 4 casos: en biopsias duodenales y peripapilares, sólo microsporidiosis (2/4) microsporidiosis y coccidiosis (1/4); en materia fecal, criptosporidiosis (1/4). Consideramos que las manifestaciones clínicas a nivel entérico y biliar originado en infecciones oportunistas en pacientes con SIDA y severo compromiso inmunológico pueden presentarse como cuadros únicos, simultáneos o evolucionar en forma progresiva.

**P18. *Trypanosoma cruzi*: Ácidos grasos libres y su relación con la metacicloogénesis** WAINSZELBAUM MJ\*, LAMMEL EM\*, WILKOWSKY SE\*, FLORIN-CHRISTENSEN M\*, FLORIN-CHRISTENSEN J#, ISOLA ELD\*.

*\*Dpto. de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Fac. de Med., UBA, Argentina. #Department of Veterinary Microbiology and Pathology, Washington State University (USA)*

En trabajos previos hemos demostrado que el extracto soluble (ES) de intestino posterior del vector hematófago, *Triatoma infestans*, induce la diferenciación del *Trypanosoma cruzi* epimastigote a la forma infectiva: tripomastigote metacíclico. Simultáneamente se induce un aumento transiente de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. Un péptido aislado a partir del ES, reproduce sólo parcialmente su efecto, sugiriendo la presencia y necesidad de otros factores. Con el objetivo de estudiar qué componentes del ES eran responsables de la metacicloogénesis se realizó una extracción lipídica, obteniéndose 2 fracciones: una superior (FS), con compuestos polares, y otra inferior (FI), enriquecida en lípidos. Se determinó que la FI, posee actividad metacicloogénica ( $26.33\% \pm 5.64$ ), y su análisis por TLC reveló la presencia de colesterol, ácidos grasos libres (AGL), triglicéridos, ésteres de esteroides y pequeñas cantidades de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina. Los estudios por cromatografía gaseosa de la fracción de AGL, mostraron la existencia de oleato (35.9%), estearato (34.3%), palmitato (19.3%) y linoleato (9.6%). La identidad de estos componentes fue confirmada por espectrometría de masa. Ensayos biológicos demostraron que tanto el oleato como el estearato promueven la morfogénesis ( $25.7\% \pm 6.7$  y  $27.2\% \pm 5.7$ , respectivamente). Cuando los AGL fueron removidos no se detectó dicha actividad. Además se determinó que los AGL producen un aumento transiente de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. Mientras que la FS proteica indujo porcentajes de diferenciación similares al ES total, no dio señal de  $\text{Ca}^{2+}$ . Por otra parte, en el ES fue detectada actividad fosfolipasa  $A_1$ , sugiriendo que la degradación de fosfolípidos en el intestino del insecto vector podría ser la fuente principal de AGL. Estos resultados sugieren que diversas moléculas estarían interactuando en el complejo proceso de metacicloogénesis. Este trabajo recibió apoyo financiero de la UBA, CONICET y UNDP/WORLD BANK/WHO Special Programme for Research in Tropical Diseases (TDR).

**P19. *Trypanosoma cruzi*: participación de la fosfatidilinositol 3-kinasa en la invasión a la célula huésped.** WILKOWSKY SE, BARBIERI MA\*, WAINSZELBAUM MJ, ISOLA ELD.

*Dpto. de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Fac. de Med., Univ. de Buenos Aires, Argentina. \*Dept. of Cell Biol. and Physiol., Washington Univ. School of Medicine, 660 S. Euclid Ave. St. Louis, USA.*

Se estudió la participación de la enzima fosfatidilinositol 3-kinasa (PI3K) en el proceso de invasión de tripomastigotes de *T. cruzi* a células no fagocíticas. Esta enzima está relacionada con procesos de regulación del citoesqueleto, mitogénesis, transporte vesicular y sobrevida celular. Dado que muchos de estos procesos se hallan alterados en la célula huésped infectada o a ser invadida, se realizaron estudios de infección con tripomastigotes de cultivo de *T. cruzi* en las líneas celulares Vero, NIH 3T3 y L<sub>9</sub>E<sub>9</sub> previamente tratadas con dos inhibidores específicos de la PI3K: Wortmannin y LY294002. Los resultados mostraron una inhibición dosis-dependiente por parte de los dos inhibidores con un máximo de inhibición de la infección de 75 y 95% con 50 mM de LY294002 y 100 nM de Wortmannin respectivamente. Por otra parte, la incubación de células Vero durante 10 min. con membranas aisladas de tripomastigotes produjo una activación de la PI3K de 10 veces el valor basal. Esta activación demostró ser estado - específica ya que las membranas de epimastigotes fueron incapaces de inducir activación de la PI3K. Además, el efecto activador de las membranas de tripomastigotes sobre la PI3K fue abolido cuando las células Vero fueron pretratadas con los inhibidores de la enzima antes mencionados. La actividad enzimática de la PI3K se determinó por inmunoprecipitación con un anticuerpo específico y determinación *in vitro* de la actividad fosfotransferasa al sustrato fosfatidilinositol, utilizando como dador de fosfatos [g<sup>-32</sup>P] ATP. El análisis de los lípidos radioactivos se realizó por cromatografía en capa delgada y cuantificación por centelleo líquido. En conclusión, la PI3K de la célula huésped sería una molécula señalizadora que posiblemente sea alterada por el parásito para facilitar su sobrevida y multiplicación intracelular. Este trabajo recibió apoyo financiero de la UBA, CONICET y UNDP/WORLD BANK/WHO Special Programme for Research in Tropical Diseases (TDR).

### Patogenia: PA

**PA1. Análisis de las reinfecciones en la respuesta del huésped frente a la infección con *Trypanosoma cruzi*.** BUSTAMANTE JM, RIVAROLA WH, FERNÁNDEZ RA, ENDERS J, FRETES R, PAGLINI P.

*Cát. Física Biomédica, Fac. Cs. Médicas (U.N.Cba). Santa Rosa 1085, 5000 Córdoba, Argentina.*

La respuesta del huésped frente a la infección con *T. cruzi* es muy variable, estando involucrados probablemente múltiples factores. En el presente trabajo se analizó el efecto de las reinfecciones valorando parasitemia, sobrevida, electrocardiografía e histopatología. Para esto se utilizaron tres grupos de ratones (n=120) albinos suizos de tres meses de edad inoculados con 50 parásitos/animal. Las reinfecciones se efectuaron a los 10 y 20 días, en un grupo con 50 parásitos/animal (I) y en el otro con 500 parásitos/animal (II). La parasitemia se controló semanalmente hasta los 90 días y los registros electrocardiográficos y estudios histopatológicos se realizaron a los 30, 60 y 90 días post-infección (dpi). Luego de la primera reinfección el grupo I presentó una parasitemia de 172060,60 ± 13961,98 parásitos/ml, con una sobrevida del 85% y de 246500 ± 4292,18 parásitos/ml y una sobrevida de 62% de la población original después de la segunda reinfección (p<0,001 con respecto al grupo II). El comportamiento en el grupo II fue similar en la primera reinfección y mostró un aumento de la parasitemia en la segunda reinfección con respecto a los otros dos grupos (p<0,01). La sobrevida fue de sólo 23% a los 90 dpi (p<0,02 con respecto al grupo I y III). Por otro lado el grupo control (III) mostró un valor de 200000 ± 45834 parásitos/ml, a

los 28 dpi, con una sobrevida del 50%. Los electrocardiogramas efectuados a partir de los 30 dpi en los ratones sobrevivientes de los grupos I y II presentaron alteraciones severas. La histopatología analizada a los 30 dpi muestra infiltrados de mononucleares y nidos de amastigotes, mientras que a partir de los 60 dpi en adelante se observan infiltrados inflamatorios y fibras musculares con necrosis en áreas perivasculares. Este trabajo muestra que las reinfecciones con *T. cruzi* y el número de parásitos aceleran la evolución de la enfermedad, de forma que comprometen los mecanismos del huésped para el control de la parasitemia, la sobrevida y la génesis de las alteraciones electrocardiográficas.

**PA2. Chagas congénito experimental: Papel de las subpoblaciones de *Trypanosoma cruzi* en el curso de la gestación.** SOLANA ME, GONZALEZ CAPPAS SM.

*Dpto. Microbiol. Parasitol. e Inmunol. Fac. Med. UBA. Paraguay 2155. 1121. Buenos Aires.*

Debido a la alta seroprevalencia de infección chagásica entre mujeres latinoamericanas, el riesgo de infección congénita es de interés en el estudio de los mecanismos de transmisión. Se ha descrito que la infección congénita podría interferir en el curso del embarazo, y algunos autores señalan como factor determinante la cepa parasitaria infectante. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio sobre un modelo murino evidencian una disminución en la fertilidad de las hembras infectadas con *T. cruzi* K-98 (miotrópica) mientras que las hembras infectadas con *T. cruzi* RA (reticulotrópica) se comportaron igual a los controles. Por otro lado, sólo pudo comprobarse pasaje transplacentario de *T. cruzi* con la cepa RA mientras que en las hembras infectadas con K98 se detectó infiltrado inflamatorio uterino. Las diferencias en la fertilidad, así como en la sobrevida de las crías nacidas de madres infectadas con K98, podrían atribuirse a la respuesta inflamatoria hallada en el útero o a alteraciones hormonales capaces de producir interferencias en la capacidad de preñez y/o en la gestación. En este período se estudió el ciclo estral de ratones hembras infectadas con K98, RA y de ratones controles, así como la inducción de resorciones fetales en dichas hembras. Los resultados señalan que no existen diferencias significativas en el número de hembras que desarrollan estro, lo que descarta una eventual incapacidad de las hembras para ser fecundadas. Por otro lado, las hembras infectadas con K98 (n=9) presentan un mayor número de resorciones fetales analizadas a los 14 días de gestación respecto de los controles (n=6) (p < 0,05, Mann-Whitney). En cambio, no se detectaron diferencias entre las hembras infectadas con RA (n=12) y los controles. Ya que todas las hembras controles e infectadas estaban capacitadas para ser fertilizadas, concluimos que el mayor número de resorciones fetales inducido por la cepa miotrópica podría estar relacionado con la inflamación uterina, lo que explicaría las diferencias halladas en fertilidad. Actualmente se está analizando el papel que ejercen los infiltrados inflamatorios en este evento.

Subsidiado por UBA, CONICET y FONCyT.

**PA3. Análisis del índice esplénico y cardíaco en cobayos inoculados con una cepa atenuada y otra virulenta de *Trypanosoma cruzi*.** ROMERO NM, SEGURA MA, MONTEROS ALVI M, DE OLSEN AA y BASOMBRIO MA.

*Fisiología Animal. Facultad de Ciencias Naturales – LaPE. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta. Buenos Aires 177. 4400 Salta – Servicio de Patología. Hosp. Dr. Arturo Oñativia. Paz Chaín N° 36, 4400 Salta.*

Uno de los signos característicos de la enfermedad de Chagas es el agrandamiento del corazón y la esplenomegalia. Los objetivos del presente trabajo fueron: determinar si existen diferencias en el peso y la histología del bazo y corazón de *Cavia porcellus* (cobayos) inoculados con la cepa atenuada TCC y la virulenta Tulahuén de *Trypanosoma cruzi*. Se trabajó con 46 animales, inoculados vía intraperitoneal, 20 de ellos (grupo A) con  $1 \times 10^4$  tripomastigotes de la cepa TCC (*Trypanosoma cruzi* de cultivo), 20 con la misma dosis pero con tripomastigotes de la cepa Tulahuén (grupo B) y 6 no fueron inoculados (grupo C= control). Se autopsiaron dos individuos de cada uno de los grupos A y B a los 15, 20, 25, 29, 35, 40, 44, 60, 90 y 120 días postinoculación (pi.), los del grupo C se autopsiaron a los 15, 29, 44, 60, 90 y 120 días de iniciado el experimento. En cada animal se determinaron el peso corporal, del bazo y corazón, y se fijaron los órganos para su estudio histológico. El grado de histiocitosis sinusoidal y de hiperplasia de los centros germinales se clasificó como 0, 1, 2 y 3. El índice cardíaco fue fluctuante durante toda la experimentación en los tres grupos, comprobándose que no existen diferencias significativas ( $F < 1$ ) entre ellos ( $A = 0,421 \pm 0,08$ ;  $B = 0,453 \pm 0,08$  y  $C = 0,405 \pm 0,05$ ). En el índice esplénico se observó una diferencia altamente significativa ( $p = 0,0014$ ) entre los grupos A ( $0,156 \pm 0,02$ ) y B ( $0,252 \pm 0,10$ ), observándose un pico de 0,480 a los 44 días pi. en el B, mientras que el A se mantuvo incluso por debajo del grupo control ( $0,168 \pm 0,03$ ). Estos resultados concuerdan con lo observado en la histología del bazo ya que en los individuos inoculados con la cepa Tulahuén es donde la hiperplasia de los centros germinales y la histiocitosis sinusoidal fue significativamente mayor ( $1,250 \pm 0,85$ ;  $p = 0,0000\dots$  y  $2,124 \pm 0,48$ ;  $p = 0,0000\dots$  respectivamente). En conclusión el índice esplénico sí es un buen indicativo de la enfermedad, observándose una concordancia entre éste y el poder patógeno del parásito.

**PA4. Estudios en la membrana miocárdica en la enfermedad de Chagas Experimental** ENDERS J, FERNÁNDEZ RA, RIVAROLA W, PALMA J, PAGLINI P.

*Cát. de Física Biomédica, Fac. Cs. Médicas (U.N.Cba), Santa Rosa 1085, 5000 Córdoba, Argentina.*

La Enfermedad de Chagas experimental genera cambios en la actividad mecánica del miocardio y la capacidad de respuesta a neurotransmisores. Nos propusimos entonces determinar la afinidad y la densidad de los receptores b-adrenérgicos (Rb-A) y estudiar las propiedades dinámicas de las membranas miocárdicas en ratones inoculados con bajo número de *T. cruzi* durante la etapa aguda, indeterminada y crónica. Para ello se utilizaron 200 adultos ratones albinos suizos. El análisis de los receptores se efectuó en fracción microsomal de ventrículos con dihidroalprenolol tritiado con y sin propranolol. La afinidad ( $K_d$  en nM) de los Rb-A cardíacos durante la etapa aguda ( $5,632 \pm 0,265$ ), indeterminada ( $6,859 \pm 0,205$ ) y crónica ( $11,208 \pm 0,257$ ), se pudo observar una disminución progresiva desde el grupo normal hacia el estadio crónico ( $p < 0,001$ ). La densidad ( $B_{max}$  en fmol/mg.prot) de los estadios agudo ( $78,245 \pm 1,672$ ) e indeterminado ( $77,282 \pm 0,910$ ) fueron similares entre sí y mayores que la del normal ( $71,965 \pm 0,360$ ) ( $p < 0,01$ ), pero la del normal fue mayor que la del crónico ( $53,325 \pm 0,713$ ) ( $p < 0,001$ ), y a su vez las densidades de los agudo e indeterminado fueron mayores que la del crónico ( $p < 0,001$ ). Se determinó la anisotropía de emisión de la fluorescencia del DPH, en suspensiones de membranas sarcoplásmicas cardíacas " $r_{DPH}$ ", siendo los resultados de los grupos infectados similar al normal:  $0,117 \pm 0,008$ . En los componentes de membrana (triglicéridos y colesterol) no se observaron diferencias entre

los grupos estudiados, siendo sus valores similares al normal ( $0,25 \pm 0,01$  g/l de triglicérido y  $36,59 \pm 3,03$  mg% de colesterol). Se puede concluir que en este modelo experimental el compromiso miocárdico evoluciona desde el inicio de la enfermedad con paulatina alteración de la función de los Rb-A cardíacos, las cuales no se acompañan de alteraciones en la composición lipídica ni en la fluidez de membrana como ocurre en otras cardiopatías.

**PA5. Enfermedad de Chagas experimental: expresión de cadenas Vb del TCR en linfocitos de lesiones tisulares.** TEKIEL V, CORREA-OLIVEIRA G\*, CORREA-OLIVEIRA R\*, GONZALEZ CAPPAS SM.

*Dpto de Microbiología, Fac. Medicina (UBA), Argentina; \*Centro de Pesquisas R. Rachou, Belo Horizonte, Brasil.*

Ratones infectados con la cepa RA de *T. cruzi* presentan signos de daño neuropático mientras que los infectados con CA-I muestran principalmente compromiso muscular. Linfocitos T (LT) de animales infectados con CA-I proliferan frente a antígenos (ag) de nervio (ne), médula (me) y músculo (mus) mientras que los LT de infectados con RA lo hacen con ag de me y ne; por transferencia pasiva, estos LT reproducen en los receptores la patología tejido-específica observada en animales infectados para cada cepa. El objetivo actual fue analizar la expresión de cadenas Vb del TCR en linfocitos de lesiones tisulares. Se obtuvo RNA total de me, ne, mus y bazo de ratones C3H/He controles ( $n=3$ ) y crónicamente infectados con las cepas RA ( $n=5$ ) ó CA-I ( $n=3$ ) de *T. cruzi*. Se amplificaron las cadenas Vb del TCR por RT-PCR utilizando primers específicos (Cb y cada uno de los 21Vb). Los productos se sembraron en membranas y se hibridaron con una sonda interna Cb marcada con DIG. Se reveló con un anticuerpo anti-DIG acoplado a PhoA y CSPD. El número de cadenas amplificadas en bazo (control de expresión periférica) fue similar para los animales controles (20,5) y los infectados con CAI (20,3); los infectados con RA expresaron menor número de cadenas (18,2) pero sin diferencias significativas. En los tejidos se observó una expresión muy restringida en los controles ( $me=7$ ;  $ne=1$ ;  $mus=5$ ), mientras que en los infectados se expresaron la mayoría de las cadenas en me para ambas cepas (CA-I=20; RA=19,6), en ne mayor proporción de cadenas para RA (17,6 vs CA-I=13) y en mus el número de cadenas fue mayor para CA-I (20,3 vs. RA=16,8). El análisis del uso relativo de cadenas evidenció una sobreexpresión de cadenas Vb1, Vb2, Vb8.1 y Vb8.2 en bazo en animales infectados, coincidentemente con lo hallado para los controles. El uso relativo de cadenas en me, ne y mus mostró una sobreexpresión de Vb9 en los tejidos blanco de daño para cada cepa (RA/ne; CA-I/mus), independientemente de su uso relativo en bazo. Esto podría indicar que el repertorio de Vb del TCR en linfocitos infiltrantes de lesiones es distintivo para el órgano blanco de daño, reforzando la idea que para dilucidar los mecanismos productores de patología se deben estudiar los mismos en el tejido lesionado.

**PA6. Enfermedad de Chagas: Alteraciones electrofisiológicas inducidas por transferencia pasiva de sueros y su correlato con depósitos de IgG en nervios de animales receptores.** TEKIEL V, JONES M\*, GONZALEZ CAPPAS SM.

*Dpto. Microbiología, Fac. Medicina (UBA) 1121 Bs. As.; \*Hospital de Niños "Sor María Ludovica", La Plata, Argentina.*

Diversas alteraciones del sistema nervioso periférico (SNP) han sido descriptas en la fase crónica de la enfermedad de

Chagas. En animales crónicamente infectados se han registrado aumento de latencia y disminución de amplitud en el potencial de acción del nervio ciático (PAN) indicando alteraciones en la mielina y/o un menor número de axones funcionantes. Por otro lado, la transferencia pasiva de sueros de animales infectados con la cepa RA reactivos por IFI contra ag de nervio normal, inducía las mismas alteraciones del PAN en los receptores. Para investigar qué componentes del suero podrían mediar estos efectos, se realizó la transferencia pasiva de sueros controles (n=4) y de animales infectados con las cepas RA (n=7) y CA-I (n=3) de *T. cruzi* con reactividad anti-nervio, a receptores singeneicos. Cuatro días post-transferencia, los animales fueron sacrificados y se extrajeron los nervios ciáticos derecho (inyectado) e izquierdo (contralateral). Se realizaron cortes longitudinales seriados en criostato los que se utilizaron alternativamente para estudios histopatológicos (H&E y luxol fast-blue) e inmunohistoquímicos (búsqueda de depósitos de C3, IgM e IgG por IFI). Los receptores de sueros RA crónicos presentaron infiltrados inflamatorios moderados y los receptores de suero RA de 15 dpi, leves, sin alteración aparente en la estructura de mielina. Los sueros CA-I no indujeron infiltrados. Los depósitos de IgG sólo fueron relevantes en los animales receptores de sueros RA crónicos, con un patrón de marca correspondiente al trayecto axonal (ó a la vaina de mielina que lo recubre). Estos resultados indican que anticuerpos reactivos contra mielina (o componentes de la misma) podrían ser responsables al menos en parte- de las alteraciones electrofisiológicas del SNP observadas en la enfermedad de Chagas crónica y señalan la relevancia de la población parasitaria infectante en cuanto a la calidad de anticuerpos que inducen y su relación con patología cepa-dependiente.

**PA7. Estudio comparativo de la respuesta tisular en cobayos inoculados con una cepa atenuada y otra virulenta de *Trypanosoma cruzi*.** ROMERO NM, SEGURA MA, MONTEROS ALVI M, DE OLSEN AA y BASOMBRIOMA.

*Fisiología Animal. Facultad de Ciencias Naturales – LaPE. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta 4400 Salta – Hosp. Dr. A. Oñativia N° 36 4400 Salta.*

Una forma de medir el poder patógeno de distintas cepas de *Trypanosoma cruzi* es a través del daño tisular y la respuesta hística que provocan. Los objetivos para este trabajo fueron: estudiar la respuesta inflamatoria, daño tisular y presencia de inmunocomplejos en corazón, cuádriceps, esófago, colon y vejiga de *Cavia porcellus* (cobayos) inoculados con la cepa atenuada TCC (*T. cruzi* de cultivo) y la cepa virulenta Tulahuén a través del seguimiento hasta los 120 días postinoculación (pi.); determinar cuáles de los órganos estudiados son los más sensibles al parásito y en qué días pi. se detectan mayor cantidad de parásitos o sus antígenos. Se trabajó con 46 cobayos inoculados por vía intraperitoneal, 20 con  $1 \times 10^4$  tripomastigotes de la cepa TCC (grupo A), 20 con la misma dosis pero de la cepa Tulahuén (grupo B), los 6 restantes no se inocularon (grupo C= control sano). Se autopsiaron dos individuos de cada uno de los grupos A y B a los 15, 20, 25, 29, 35, 40, 44, 60, 90 y 120 días pi., los del grupo C se autopsiaron a los 15, 29, 44, 60, 90 y 120 días de iniciado el experimento. Se emplearon las técnicas habituales para inclusión en parafina. La coloración de rutina fue la Hematoxilina-Eosina y como técnica específica se usó la inmunomarcación aplicando un antisuero policlonal poliespecífico obtenido en ratón, según el método ABC. La respuesta inflamatoria en todos los casos fue de tipo linfo-plasmocitario con escasos macrófagos, siendo valorado como ausente, leve, moderada o

severa. Se observaron diferencias significativas en la respuesta inflamatoria en todos los órganos estudiados al comparar las dos cepas, siendo de mayor severidad con Tulahuén. Corazón y vejiga son los que evidenciaron mayor daño tisular y respuesta hística. En ningún individuo inoculado con TCC se encontraron amastigotas. En vejigas de cobayos inoculados con Tulahuén es donde se encontró la mayor cantidad de nidos de amastigotas e inmunocomplejos retenidos en infiltrados inflamatorios, entre los días 29 y 44 pi., siendo mayor y más fácil la identificación con la técnica de inmunomarcación. Se comprueba en *C. porcellus* el bajo poder patógeno de la cepa TCC, destacándose la vejiga como el órgano en donde se detectaron más nidos de amastigotes entre los 29 y 44 días pi. en los individuos inoculados con la cepa Tulahuén.

## Vectores y Reservorios: VR

**VR1. *Aedes aegypti* en la ciudad de Corrientes, Argentina.** BORDA CE<sup>1</sup>, REA MFJ<sup>1</sup>, ROSA JR<sup>1</sup>, MOSQUEDA LA<sup>1</sup> y SARIO H<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales, Facultad de Medicina, UNNE, 3400 Corrientes, Argentina. <sup>2</sup>Dirección de Zoonosis, Municipalidad de la Ciudad de Corrientes.

En 1965 la Oficina Sanitaria Panamericana consideró erradicado de la Argentina el *Aedes aegypti*. Por descuidos en la vigilancia epidemiológica fue reintroducido en la década del 80 en la región tropical y subtropical del norte del país. Actualmente alcanza la región del centro y sur incluyendo la provincia de Buenos Aires. En noviembre de 1996 fue encontrado en Gobernador Virasoro en la provincia de Corrientes. Desde entonces se demuestra la infestación en otras seis localidades, Ituzaingó, Paso de los Libres, Bella Vista, Saladas, Cuatro Bocas y la ciudad de Corrientes. En esta última, capital de la provincia del mismo nombre ubicada en el nordeste de la Argentina, se llevó a cabo una encuesta entomológica, con el objetivo de conocer el nivel de infestación por el *A. aegypti*. La ciudad tiene una población de 267742 habitantes que viven en 86 barrios. Para tal fin, se confeccionaron formularios donde se registraron los datos de la encuesta. Esta consistió en la búsqueda de larvas en todos los depósitos de agua existentes en el exterior e interior de los puntos estratégicos de 44% de los barrios, entre diciembre de 1997 y junio de 1999. Se colectaron 558 muestras conservadas en alcohol de 70° y se identificaron microscópicamente un total de 5555 larvas, correspondiendo 491 a *A. aegypti*. Este infestaba el 23% de los barrios examinados y fue encontrado en las cuatro estaciones del año. En la estratificación del trabajo, la ciudad de Corrientes está actualmente en el nivel I (NI), infestado con *A. aegypti*, sin transmisión de dengue.

**VR2. Interacción *Trypanosoma cruzi*- vector: Cambios de la composición proteica en hemolinfa de *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera: Reduviidae).** CANO RC, MARCATO MB y RUBIOLA ER.

*Dpto. Bioquímica Clínica, Fac. de Cs Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Ciudad Universitaria S/N 5000 Córdoba y Servicio Nacional de Chagas. MS y A S. Córdoba.*

Nuestro objetivo fue estudiar el perfil de proteínas hemolinfáticas del vector infectado- por vía digestiva- con el *Trypanosoma cruzi*. Con esta finalidad se emplearon ninfas IV de *D. maximus*, de muda sincrónica y peso corporal semejante y tripomastigotes, cepa Tulahuén. En el diseño experimen-

tal, el grupo infectado (n=40) se alimentó sobre ratones albino swiss *inbred* con parasitemia promedio  $1.5 \times 10^5$  parásitos/ml y el grupo control (n=40) sobre ratones libres de infección. La cantidad de sangre ingerida se determinó por pesada diferencial de los insectos pre y post-alimentación. El control de infección se realizó (16 días) sobre un lote tomado al azar y fue positivo en el 100% de los insectos examinados. La hemolinfa fue extraída a los 16 días, por corte de las extremidades, en presencia de ditiotretol e inhibidores de proteólisis. Las proteínas se determinaron según Bradford. La hemolinfa total y las fracciones FI, FII y FIII obtenidas por cromatografía de filtración molecular, en ambos grupos de insectos, fueron analizadas por electroforesis en condiciones nativas y desnaturizantes y el perfil resultante evaluado por densitometría. Los resultados mostraron en condiciones nativas, cambios cualitativos del perfil proteico total en el grupo infectado vs control, con aparición de una banda catódica (4%) y una caída del 50% en la proteína cuantitativamente más importante. En el sector anódico, sólo se observaron cambios cuantitativos. El análisis por electroforesis nativa de FI y FII, confirmó una caída cuantitativa de las proteínas catódicas en el grupo infectado, las cuáles, en condiciones desnaturizantes - reductoras, mostraron estructura multimérica, sugiriendo similitud con las proteínas de almacenamiento, comunes a la clase Insecta. En FII se observó, la aparición de dos bandas de PM < 30 Kd en el grupo infectado vs control. Estos resultados permiten inferir que los cambios en el perfil proteico total y en proteínas catódicas de FI y FII del grupo infectado podrían ser atribuidas a alteraciones metabólicas inducidas en el vector como consecuencia de su colonización intestinal; mientras que, las bandas de bajo PM en FII, podrían pertenecer al grupo de proteínas indecibles, en respuesta a la infección parasitaria.

**VR3. Cría de especies de *Lutzomyia* de la provincia de Corrientes, Argentina, en condiciones experimentales.** ROSA JR, BORDA CE, REA MJF, MOSQUEDA LA.

Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales, Facultad de Medicina, UNNE, 3400 Corrientes, Argentina.

En la zona suburbana de la ciudad de Corrientes, capital de esa provincia ubicada en el noreste de la Argentina, existe transmisión de la leishmaniasis. En mayo de 1999, entre las 19,30 y 21,30 hs, fueron capturados 207 ejemplares vivos de *Lutzomyia*, en un peridomicilio, utilizando la trampa de Shannon y el capturador de Oliveira Castro. El objetivo era disponer de colonias que posibilitarían la transmisión experimental en animales de laboratorio y en xenodiagnósticos de pacientes. Las especies encontradas en orden decreciente fueron: *L. (Nyssomyia) intermedia*, *L. migonei*, *L. cortelezzii*, *L. (Pintomyia) pessoai* y *L. (Psathyromyia) shannoni*. Por contar con mayor número de ejemplares de ambos sexos de las dos primeras especies, con éstas se trató de formar colonias. El ambiente del insectario tenía temperatura y humedad relativa comprendida entre los 25 y 27°C y de 90 a 100%. Las hembras se alimentaron succionando la sangre de hamsters anestesiados (pentobarbital 0,20ml/100g), los machos de una solución de miel y agua embebida en trozos de algodón y las larvas comiendo un fino granulado especialmente preparado ("xaxin", heces secas de conejo, tierra, lechuga deshidratada). En estas condiciones fue posible obtener con *L. intermedia* hasta la F3, partiendo de 60, 43 y 10 hembras fertilizadas. En las tres generaciones la duración media en días de la evolución de huevos hasta la eclosión, mudas larvales y de la pupa a adulto fueron en la F1 de 9, 19 y 10 días; en la F2 de 17,18 y 9 días y, en la F3 de 7, 23 y 7 días respectivamente. En estas generaciones

el ciclo biológico completo demandó una media de 35 días. Con una hembra fertilizada de *L. migonei* solamente se obtuvo una generación que necesitó de 39 días desde el desove de los huevos hasta adulto. El mantener una colonia de *Lutzomyia* en el laboratorio, ha tenido logros parciales y actualmente, se trata de resolver la contaminación de los recipientes de cría.

**VR4. Ecotopos peridomiciliarios asociados con *Triatoma infestans* y otras especies de triatomíneos en áreas rurales de La Rioja.** CANALE DM<sup>1</sup>, SPILLMANN CA<sup>1</sup>, STARIOLO RL<sup>1</sup>, SALOMON OD<sup>2,3</sup>, BLANCO SB<sup>1</sup>, GÜRTLER RE<sup>2,4</sup>, SEGURA EL<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Servicio Nacional de Chagas (SNC), 9 de julio 356, 5000 Córdoba. <sup>2</sup>ANLIS-Malbrán. <sup>3</sup>CENDIE. <sup>4</sup>Depto. Biología, FCEN-UBA.

Este estudio se llevó a cabo en 363 viviendas rurales de los Dptos. Belgrano y Chamental (La Rioja), con el objeto de describir la frecuencia de infestación y colonización por ecotopo para las distintas especies de triatomíneos, y analizar la frecuencia de asociación entre especies. Se evaluaron 1.748 ecotopos peridomiciliarios por el método de hora-hombre con un desalojante (tetrametrina 0,3%), y los triatomíneos capturados se clasificaron por especie y estadio. Se realizó un croquis con la ubicación y tipo de estructura peridomiciliaria de cada vivienda. Los ecotopos evaluados estuvieron representados en orden decreciente por corrales de cabras, árboles con gallinas, galpones, y gallineros. La infestación global de los ecotopos inspeccionados fue del 43%, siendo para *T. infestans* del 38%, para *T. guasayana* de 9%, y para *T. garciabesi* de 2%. Se capturaron 5.251 *T. infestans*, 379 *T. guasayana*, y 95 *T. garciabesi*. El índice de colonización fue similar en las tres especies. Los ecotopos más frecuentemente asociados con *T. infestans* fueron los corrales de cabras (39%) y galpones (19%); con *T. guasayana*, los corrales de cabras (67%) y gallineros (7%); con *T. garciabesi*, los árboles con gallinas (33%) y gallineros (20%). Las 3 especies estuvieron asociadas con gallinas y cabras, pero con diferente frecuencia e importancia relativa. La asociación más relevante entre especies se observó entre *T. infestans* y *T. guasayana* (15%), mientras que *T. guasayana* y *T. garciabesi* casi no compartieron ecotopos (0,9%). En conclusión, 1) *T. infestans* es la especie más frecuente en los distintos ecotopos observados. 2) *T. guasayana* y *T. garciabesi* se hallaron espacialmente segregadas en el ambiente peridoméstico. 3) *T. guasayana* superó a *T. garciabesi* en la abundancia y prevalencia de infestación por ecotopo, situación inversa a la descrita para Amamá, Santiago del Estero.

**VR5. Cultivos primarios y subcultivos de células embrionarias de *Triatoma infestans*.** COMINI MA y CLAUS JD.

Instituto de Tecnología Biológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Ciudad Universitaria, Paraje "El Pozo", Santa Fe, Provincia de Santa Fe.

Se desarrolló una metodología para establecer cultivos primarios de células embrionarias del insecto hemíptero *Triatoma infestans*. Huevos embrionados (gentileza de la Dra. Delmi Canale), de entre 1 y 12 días de postura, fueron esterilizados superficialmente mediante inmersión en etanol 70%, y luego enjuagados en medio de cultivo, previo a su ruptura por extracción del opérculo. El contenido total de los huevos fue depositado en pocillos de una placa para cultivos celulares de 24 orificios (entre 5 y 10 huevos por pocillo), agregándose 0,3 ml de

medio de cultivo por pocillo. Se evaluaron distintos medios de cultivo, suplementados con 15 - 20% de suero fetal bovino (RPMI-1640, L-15, Shields and Sang, Schneider, MM y TC-100), o libre de suero (Sf-900II). Los cultivos primarios mostraron una gran diversidad de morfologías celulares, apreciándose la presencia de acúmulos celulares, algunos de ellos con actividad contráctil, así como células adherentes y en suspensión. Los núcleos de proliferación se establecieron, en su gran mayoría, a partir de acúmulos de células depositados sobre la superficie de cultivo. Los cultivos desarrollados en los medios L-15, Shields and Sang y Schneider evolucionaron favorablemente, mientras que los establecidos en los otros medios decayeron en períodos variables de tiempo y fueron descartados. La fuente de suero fetal bovino resultó una condición relevante en la evolución de los cultivos primarios, así como también la edad de los embriones. Dos meses después del comienzo de los cultivos primarios fue posible realizar los primeros subcultivos. Para ello se utilizaron dos técnicas alternativas: el tratamiento con tripsina de las células adherentes o el repique de la fracción de células en suspensión y acúmulos no adheridos. Mediante ambos tratamientos se pudieron establecer cultivos secundarios en pocillos de una placa de 12 orificios, mostrando una evolución más rápida aquellos desarrollados en medio Shields and Sang suplementado con 20% de suero, de los cuales uno se encuentra ya en el pasaje número 4.

**VR6. Reacción tisular de *Biomphalaria straminea* frente a *Schistosoma mansoni*.** GRASSI L., ANDRADE Z.\*, GONZALEZ CAPPA SM.

Dpto. de Microb. Parasit. e Inmun. Fac. Medicina.UBA. Argentina. \*Lab.Patol. Exper. Centro Pesq. Goncalo Moniz.Fund.Oswaldo Cruz. Bahía. Brasil.

La mayoría de la especies de trematodos digenéticos, utilizan en su ciclo de vida un molusco como primer hospedero intermediario (HI). *S. mansoni* tiene como HI a moluscos del género *Biomphalaria*. En la Argentina, una de las especies de este género es *B.straminea*. El grado de compatibilidad entre el molusco y El parásito es fundamental para la transmisión de esta parasitosis. Existen distintos grados de resistencia y susceptibilidad en esta asociación parásito-hospedero. Experimentos en nuestro laboratorio demostraron que *B. straminea* de distintas localidades de Argentina es totalmente resistente a *S. mansoni* y nunca se logró su infección (medida como emisión de cercarias) a diferencia de *B. straminea* de Brasil que es poco susceptible. Objetivo: determinar si los parásitos invaden tejidos del molusco y si evolucionan (o no). Para ello *B. straminea* de Argentina resistentes, y controles de susceptibilidad conocidas (*B. glabrata* de Brasil) fueron expuestos a miracidios de *S. mansoni* (Cepa SJ y EC). A distintas horas post-exposición (p.e) fueron sacrificados y procesados para la búsqueda histológica de miracidios, esporoquistes y cercarias y el análisis de la respuesta tisular del caracol hacia estos estadios parasitarios. Resultados: en *B.straminea* de Argentina se encontraron miracidios de ambas cepas hasta 24 hs p.e. al parásito. Los mismos se hallaron en estado de degeneración como consecuencia de la reacción tisular del caracol, la que fue focalizada alrededor del miracidio (Reacción Tipo I). En cortes realizados a las 72 hs y 60 días p.e no hubo evidencias del parásito ni de reacciones tisulares asociadas a su destrucción, como por ejemplo granulomas (Reacción Tipo II). En cambio se observaron cercarias y esporoquistes en tejidos de *B. glabrata* indicando ausencia de reacción tisular. Conclusión: los miracidios son capaces de invadir los tejidos de *B. straminea* de Argentina, pero el sistema de defensa del molus-

co, con una respuesta tisular Tipo I es capaz de impedir su desarrollo a cercarias. (Subsidiado por FONCYT).

**VR7. Ensayo a campo de un prototipo de sensor para detectar poblaciones peridomésticas de *Triatoma infestans* en el noroeste de Argentina.** GÜRTLER RE<sup>1,2</sup>, VAZQUEZ PROKOPEC GA<sup>2</sup>, CEBALLOS LA<sup>2</sup>, LUND PETERSEN C<sup>2</sup> SALOMON OD<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>ANLIS Malbrán. <sup>2</sup>Depto. Ciencias Biológicas, FCEN-UBA. <sup>3</sup>CENDIE-ANLIS Malbrán.

Se ensayó a campo un prototipo de sensor adaptado para detectar la presencia de *Triatoma infestans* en ecotopos peridomésticos que alojan animales domésticos. Estos prototipos se aparearon con cañas de bambú. En Diciembre de 1998 y Mayo de 1999 se identificaron ecotopos infestados por *T. infestans* mediante búsquedas asistidas con un aerosol desalojante (media hora-hombre por peridomicilio) en Amamá y comunidades rurales cercanas (Santiago del Estero), las que se hallan bajo vigilancia entomológica. En ecotopos infestados y no infestados (corrales, gallineros, depósitos, hornos) se colocaron 1-2 pares de dispositivos por ecotopo en Febrero o Mayo de 1999, y se los inspeccionó en busca de evidencia de infestación en Mayo y Setiembre de 1999. El prototipo de sensor era un pote plástico cilíndrico de 19 cm de altura y 10 cm de diámetro, con una tapa a rosca y dos aberturas a nivel del piso, y una estructura central de cartón corrugado. Las cañas de bambú eran de 12 cm de longitud y 2,5 cm de diámetro interno, conteniendo papel de filtro plegado. Un total de 32 (58%) de los 55 prototipos colocados en 21 (64%) de 33 ecotopos infestados detectaron al menos un signo de infestación desde Febrero o Mayo hasta Setiembre. En ecotopos infestados, los prototipos permitieron la colección de 97 *T. infestans*, 1 *Triatoma guasayana*, 1 *Triatoma garciabesi*, 30 exuvias, 116 huevos, y 265 deyecciones típicas de triatominos. Las cañas de bambú fueron significativamente menos sensibles que los prototipos; sólo detectaron 2 *T. infestans*, 1 exuvia, y 15 deyecciones. Un 43% de los 21 ecotopos no infestados por triatominos, de acuerdo a la hora-hombre, presentaron algún signo de infestación en los prototipos. Este estudio describe un sensor peridoméstico efectivo, y provee datos cuantitativos de su performance durante la época de menor actividad de los triatominos.

**VR8. Colonización y abundancia de *Triatoma infestans* en áreas peridomiciliarias rurales de La Rioja.** SPILLMANN CA<sup>1</sup>, CANALE DM<sup>1</sup>, STARIOLO RL<sup>1</sup>, SALOMON OD<sup>2,3</sup>, BLANCO SB<sup>1</sup> GÜRTLER RE<sup>2,4</sup>, SEGURA EL<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Servicio Nacional de Chagas (SNC), 9 de julio 356, 5000 Córdoba. <sup>2</sup>ANLIS-Malbrán. <sup>3</sup>CENDIE. <sup>4</sup>Depto. Biología, FCEN-UBA.

Con el objeto de describir la infestación peridomiciliaria por *T. infestans* y establecer una línea de base para medir el impacto de futuras intervenciones, 3 equipos cada uno compuesto por 2 técnicos expertos del SNC y un supervisor evaluaron la infestación peridomiciliaria de 363 viviendas rurales de los Deptos. Belgrano y Chamental (La Rioja) por el método de hora-hombre con un agente desalojante (tetrametrina 0,3%). Se realizó un croquis con la ubicación y tipo de cada estructura peridomiciliaria (ecotopo) en cada vivienda. Los triatominos capturados fueron individualmente clasificados por especie y estadio. Sobre 363 viviendas con peridomicilios evaluados se encontró una prevalencia de infestación por *T. infestans* del 89,5% y del 84,5% en Chamental y Belgrano, respectivamente. En promedio, se hallaron 1.8 colonias por peridomicilio (des-

vío st, 1,21; máximo, 9). La captura fue de 19,6 *T. infestans* en Chamental y 16,2 en Belgrano. Se hallaron 498 ecotopos positivos para *T. infestans* en Belgrano y 165 en Chamental, con un promedio de 2,1 ecotopos positivos por casa (ds 1,26; máximo, 9). Ambos Dptos. fueron homogéneos respecto de la frecuencia e intensidad de infestación peridomiciliaria, el grado de colonización, y la frecuencia de ecotopos infestados por *T. infestans*. Si bien la densidad de *T. infestans* fue relativamente menor que antiguamente, la prevalencia de infestación y colonización peridomiciliaria es alta. Esto refleja la falta de continuidad y contigüidad de los tratamientos químicos en estas zonas en los últimos diez años. Estos resultados refuerzan la gran relevancia del peridomicilio como fuente de *T. infestans*, y subrayan la necesidad de desarrollar medidas específicas de acción destinadas a optimizar las actuales estrategias de control de *T. infestans* en estos sitios en particular.

## Epidemiología: EPI

### EPI1. Seroprevalencia Chagásica en Donantes de Sangre de la provincia de Formosa en 10 años. BASUALDO MA, RODRÍGUEZ C y MURACCIOLE DI.

*Departamento Bioquímica, Ministerio de Desarrollo Humano Formosa. Hipólito Yrigoyen 235 Formosa.*

Con el objetivo de observar la tendencia de la infección Chagásica en donantes de sangre de la provincia de Formosa, se analizaron los datos registrados sistemáticamente por los integrantes del módulo "Información del control de infecciones transmitidas por transfusiones" de la red provincial de laboratorios públicos, que realizaron dichos controles entre 1.989 - 1.998, mediante las técnicas HAI y ELISA, según normas. Observándose los siguiente resultados:

AÑO	TOTAL	POSIT	% POSIT.
1.989	219	23	10,5
1.990	891	89	9,98
1.991	1.138	116	10,19
1.992	1.324	136	10,27
1.993	2.216	181	8,17
1.994	2.397	201	8,38
1.995	2.242	138	6,15
1.996	2.616	141	5,39
1.997	3.065	236	7,70
1.998	3.076	279	9,07

Mientras el total de controles realizados tiende a aumentar, los Niveles de afectados siguen un comportamiento irregular: estables al comienzo, declinan hacia 1.993 - el menor valor (5,39%) se observa en 1.996 - ascienden al final. Posiblemente a causa de 1) Cambios importantes en la población de donantes, 2) Que el grupo aún no refleja el impacto de las medidas de control o 3) Que esté expresando inconvenientes en el control de la endemia. Tema que merece ser investigado en detalle.

### EPI2. Chagas transfusional: Casos potencialmente evitables. BASUALDO MA, RODRÍGUEZ C y MURACCIOLE DI.

*Depto Bioquímica, Ministerio de Desarrollo Humano. Hipólito Yrigoyen 235 Formosa*

Nos propusimos estimar el número de casos de Chagas transfusional potencialmente evitable, registrados entre 1.993 y 1.998 en la provincia de Formosa.

Se analizó la información originada al testear la infección chagásica en la sangre donada para transfusiones, mediante las pruebas HAI y ELISA, la que es remitida al Departamento Bioquímica, en forma mensual y sistemáticamente, por 16 laboratorios integrantes de la red provincial. De los 16.905 donantes (Md anual : 2.817,5) registrados en estos 6 años, se estudiaron 15.612 (Md anual: 2.602), siendo la cobertura promedio anual de 92,35% (2.602/2.817,5). Resultaron seroreactivas 1.176 unidades (Md: 196) obteniéndose una seroprevalencia promedio anual de 7,53% (196/2.602). Por lo tanto con el control serológico del 92,35% de los donantes en promedio anual, con una seroprevalencia del 7,53%, una sensibilidad y especificidad cercana al 100% al practicar simultáneamente las dos pruebas serológicas según normas, el riesgo de adquirir la infección a *T. cruzi* por vía sanguínea es de 0,57% (son 16 unidades de sangre no controladas e infectadas en las 2.817,5 colectadas). Si la efectividad teórica de transmisión de la enfermedad para una única transfusión de 500 ml de sangre chagásica varía entre 12,5 y 25%, resultan 2 a 4 nuevos casos de Chagas transfusional por año. Son 12 a 24 nuevos infectados en el período estudiado, constituyendo el número de casos potencialmente evitables si se hubiera alcanzado el 100% de cobertura serológica en todo el período. Si bien se considera que a niveles de cobertura mayor al 90% prácticamente se interrumpe la transmisión, según este modelo matemático, la probabilidad de infección por esta vía es de relevancia y garantizar el estudio del total de las donaciones de sangre es primordial

### EPI3. Marcado descenso en la prevalencia de Enfermedad de Chagas en embarazadas en Santiago del Estero. BARBIERI GP, SUAREZ L, PARADELO L, BRIZ M.

*Centro de Enfermedad de Chagas. Hospital Independencia. Avda. Belgrano y Bolivia. 4200 Santiago del Estero*

Con el objetivo de instalar un programa de control del Chagas congénito se estudiaron serológicamente todas las madres que concurren a las dos maternidades de la provincia. Durante todo el año 1998 se analizaron 9460 parturientas provenientes en un 58% de zonas rurales y 42% de ciudad Capital y La Banda. Se les tomo a todas una muestra de sangre en sala de partos, ya que en alto porcentaje no tenían estudios previos, con ella se les realizo un barrido con HAI título 1/16, las reactivas fueron confirmadas con TIF y HAI. Simultáneamente se tomo una muestra de sangre de cordón para realizar estudios parasitológicos y serológicos al recién nacido. Se obtuvieron 643 muestras reactivas para las dos reacciones, lo que da una prevalencia del 6,76%, mientras que en la década del 80 para el mismo grupo poblacional la prevalencia fue del 21,76%. El importante y sostenido trabajo realizado en la Provincia y la continuidad en la aplicación de los programas de control se expresa en lo inmediato con una abrupta caída en la incidencia del Chagas agudo vectorial y en lo mediato con un descenso marcado en los índices de prevalencia de los distintos grupos poblacionales que se estudian en el Centro.-

### EPI4. Inmunoensayo enzimático para el diagnóstico de la infección chagásica en perros con el antígeno recombinante SAPA. CIMINO R, DIOSQUE P, CARMONA N, MESA C, NASSER JR, BASOMBRIÓ MA.

*Cátedra de Química Biológica. Facultad de Ciencias Naturales y Laboratorio de Patología Experimental, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires 177, 4400 Salta.*

Dada la necesidad de contar con un inmunoensayo enzimático específico para perros, se normatizó una técnica

de ELISA para determinar la infección chagásica utilizando como antígenos un homogenado proteico de *T. cruzi* de la cepa Tulahuén (HPTUL) y el antígeno recombinante SAPA (Shed Acute Phase Antigen). Los animales en estudio pertenecen a tres villas rurales endémicas de la provincia del Chaco. La técnica fue aplicada a 70 muestras de sangre recogidas en capilares heparinizados y conservadas en buffer PBS - glicerol al 30%. Las mismas fueron recolectadas en 1999 en dos rondas, lográndose 43 muestras en la primera, y 27 en la segunda. La dilución realizada fue de 1:100. Estos estudios serológicos arrojaron los siguientes resultados: 13/70 (18.57%) casos positivos para HPTUL y 12/70 (17.14%) positivos para el antígeno SAPA. Del total de los casos positivos para ambos antígenos, cuatro fueron confirmados por xenodiagnóstico aplicados a los respectivos perros estudiados en la primera ronda. El único caso de serología negativa para el recombinante SAPA como antígeno de placa y positiva para el HPTUL podría deberse a una cruzada antigénica con otra patología canina quedando para ser resuelto con otra técnica como, xenodiagnóstico y/o con PCR con cebadores específico para la infección chagásica. El diagnóstico serológico de la infección chagásica en perros mediante la aplicación de esta técnica inmunoenzimática utilizando ambos antígenos funcionaría como una valiosa herramienta para, entre otras aplicaciones, evaluar el rol epidemiológico del perro en la transmisión chagásica en zonas endémicas. Subsidiado por el Consejo de Investigación de la Univ. Nac. de Salta y CONICET

**EPI5. Evaluación de un método parasitológico para la detección precoz de infección en hijos de madres chagásicas.** DE RISSIO AM, MAIDANA CG, MARTÍN GARCÍA M y RUIZ AM.

*Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben" (INP) ANLIS-Malbrán, Paseo Colón 568, 1063 Buenos Aires.*

El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de un estudio realizado en hijos de madres seropositivas a *T. cruzi* por dos o más técnicas durante el primer año de vida, empleando un nuevo micrométodo para la detección de parásitos en la que se utiliza pequeños volúmenes de sangre heparinizada y un procedimiento técnico, rápido y fácil de ejecutar, adecuado al cumplimiento estricto de la Bioseguridad en el Laboratorio. Se estudiaron 399 niños que concurren por primera vez al INP, Departamento de Diagnóstico. Las edades de los niños oscilaron entre 15 a 20 días de nacidos y 18 meses. A todos ellos se les realizó diagnóstico serológico consistente en: hemoaglutinación indirecta (HAI), enzimoimmunoensayo (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta (IFI), y diagnóstico parasitológico: Xenodiagnóstico (Xd) y Micrométodo. Este último emplea un tubo Eppendorff de 1,5 ml de capacidad en el que se coloca, una gota de heparina más 0,5 ml de sangre venosa, se mezcla por inversión y se centrifuga 1 min. a 3000 r.p.m. Se toma una gota de la interfase y se observa al microscopio entre porta y cubreobjeto con 400 aumentos. El método de referencia fue el Xd. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: 383 / 399 (96,25%) resultó negativo por Xd y micrométodo, 15 / 399 (3,75%) positivos por ambos métodos, y 1 / 399 (0,25%) positivos por Xd y negativo por Micrométodo. Se observa una concordancia entre el Micrométodo y el Xenodiagnóstico del 99,75%. Los resultados aquí presentados son promisorios y este estudio deberá continuarse para mejorar los parámetros técnicos - operativos a fin de ajustar la sensibilidad en los casos de niveles de baja parasitemia.

Este trabajo recibió financiación de ANLIS-Malbrán.

**EPI6. Parasitosis zoonóticas transmitidas por perros en el Chaco Salteño, Salta, Argentina.** TARANTO NJ<sup>1,2</sup>, PASAMONTE L<sup>1</sup>, MARINCONZ R<sup>1</sup>, DE MARZI M<sup>3</sup>, CAJAL SP<sup>1,2</sup>, MALCHIODI EL<sup>3</sup>.

*<sup>1</sup>Inst. de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, UNSa. <sup>2</sup>Cát. de Microbiología y Parasitología, Sede Regional Orán, UNSa. <sup>3</sup>IDEHU, (CONICET-UBA), Inmunología, FFyB, UBA.*

Los geohelminthos zoonóticamente importantes que parasitan al perro constituyen un relevante problema de salud pública, destacándose entre ellos *Toxocara canis* y *Ancylostoma spp.* Debido a que los médicos de atención primaria comunicaban que un número importante de niños presentaban lesiones reptantes de piel, eosinofilia persistente y hepatomegalia, se llevó a cabo un estudio epidemiológico en dos poblaciones ubicadas en el "chaco salteño", selva xerófila, agreste, en donde conviven estrechamente el hombre con la más variada gama de animales. A una muestra de 98 niños se les evaluaron parámetros hematimétricos y anticuerpos anti-*Toxocara* por microELISA con un equipo comercial (BioLab), que utiliza antígeno metabólico excretorio - secretorio de larvas L2 de *Toxocara canis*. Los parámetros hematimétricos no mostraron grandes alteraciones, excepto en 36 niños (36,73%) que presentaron eosinofilia igual o superior al 10%. Se encontró que el 20,4% (20/98) de los niños estudiados tenían Acs contra el Ag de *Toxocara canis* y que el 55,6% (20/36) de los niños con eosinofilia presentaban Ac anti-*Toxocara*. Se investigaron además, 106 muestras de heces de perros recogidas en el domicilio y peridomicilio de los niños. Se emplearon 3 técnicas de diagnóstico coproparasitológico, examen en fresco, centrifugación y flotación, realizándose recuento de huevos. De las 106 muestras analizadas, 82 (77,4%) resultaron positivas. El 69,8% (74/106) fueron positivas para *Ancylostoma spp.* y el 17,2% (19/106) para *Toxocara canis*. Otros parásitos encontrados fueron *Trichuris vulpi* 7,6%, *Giardia spp.* 14,5%, *Ameba spp.* 2,8% y *Taenia spp.* 1,9%. Se encontró un promedio de 200 huevos de *T. canis* y de 3.871 huevos de *Ancylostoma spp.* por gramo de heces. Se destaca la necesidad de implementar medidas de control sanitario y educación para la salud, indispensables para la prevención y control de estas patologías.

**EPI7. Indicadores epidemiológicos en un área endémica para la Enfermedad de Chagas en la provincia de Chaco, Argentina.** DIOSQUE P, CIMINO R, CARMONA N, MESA C, SÁNCHEZ NEGRETTE O, NASSER J y BASOMBRIO MA.

*Laboratorio de Patología Experimental, Fac. Cs. de la Salta, UNSa, Bs Aires 177, 4400 Salta.*

Se estudiaron las prevalencias serológicas en la población humana y canina, y se realizaron xenodiagnósticos en perros, en una localidad del Depto. Chacabuco, Chaco. El área de estudio fue tratada con Deltametrina en los años 1995-1996, posteriormente se rociaron las viviendas en las cuales se detectó la presencia de vectores. Se estudió un total de 43 humanos y 74 perros. Las muestras de humanos se analizaron mediante las técnicas de hemoaglutinación indirecta y ELISA. Fueron consideradas positivas las muestras reactivas para ambas técnicas. Las muestras de perros se analizaron mediante la técnica de ELISA utilizando como antígeno un homogenato de *T. cruzi* de la cepa Tulahuén. Las muestras positivas fueron confirmadas mediante la misma técnica utilizando el antígeno recombinante SAPA de *T. cruzi*. Resultados: 4,65% de humanos positivos (2/43); 17% de perros serológicamente positivos (12/70); xenodiagnóstico positivo en 8,89% de los perros estu-

diados (4/45). Se inspeccionaron 14 viviendas (9,27% del total de viviendas del área de estudio) detectándose presencia de *T. infestans* en el 57% de estas viviendas (8/14) y en 4 viviendas se hallaron vinchucas infectadas por *T. cruzi*. En 5 viviendas en las que se detectó el vector también se hallaron perros con xenodiagnóstico y/o serología positiva. El hallazgo de vectores intradomiciliarios infectados indicaría que la transmisión vectorial en el área podría estar produciéndose. En las viviendas en las que se encontró *T. Infestans*, la presencia del vector no había sido denunciada por parte de sus ocupantes. Esto pone de manifiesto la necesidad de mantener e intensificar las campañas de educación relacionadas a la lucha contra el vector. Agradecemos a F Ramos, M Padilla, D Marco y A Juárez. Este trabajo está financiado por CONICET y CIUNSA

**EPI8. Influencia de la variación estacional en el grado de contaminación con huevos de *Toxocara* en espacios verdes de Santa Fe.** MARTIN UO, ANZAUDO MM y GUTIERREZ CE.

*Cát de Parasitología. Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales. FB y Cs. Biológicas. UNL. Paraje El Pozo. CU. 3000 Santa Fe. Argentina. E-mail: umartin@fcb.edu.ar*

*Toxocara canis* y *Toxocara cati*, parásitos del perro y el gato, respectivamente, son agentes responsables de enfermedad en humanos. La infección puede presentarse en forma asintomática, encubierta, como síndrome de larva migrans visceral o síndrome de larva migrans ocular. Los huevos de estos ascáridos son eliminados en las heces de los animales domésticos y pueden permanecer viables en la tierra por varios meses e incluso años, con temperaturas entre 15°C y 35°C y 85% de humedad. En Santa Fe se presentan buenas condiciones climáticas para la persistencia de estas formas parasitarias. En este trabajo estudiamos el grado de contaminación con huevos de *Toxocara* en distintas estaciones del año

Se analizaron 200 muestras de materia fecal de perros y de arena obtenidas de plazas y parques de la Ciudad de Santa Fe y distritos aledaños. Los resultados obtenidos durante el verano muestran un 42,4% de positividad (N=99), mientras que en invierno, 19,8% (N=101); se observa una variación de la prevalencia de huevos de *Toxocara* durante diferentes épocas del año ( $p < 0,05$ ). El aumento de la oferta parasitaria en los paseos públicos en época estival, donde la población infantil asiste con mayor asiduidad, configura un importante riesgo de adquirir la infección. Con este trabajo preliminar hemos querido contribuir con uno de los aspectos relacionados con la contaminación parasitaria del medio ambiente.

**EPI9. Seguimiento de la prevalencia de la enfermedad de Chagas de un distrito de la provincia de Santa Fe.** NEPOTE M\*, ACHKAR G\*\*, FABRONI R\*\*.

*\*Programa Provincial de Chagas, Boulevard Pellegrini 3550, Santa Fe. \*\*Programa Provincial de Red de laboratorio. Santa Fe.*

El distrito Garabato está ubicado en la zona norte de la Provincia de Santa Fe, en el Departamento Vera. En el año 1987 el Programa Provincial de Chagas realizó un estudio serológico a niños menores de 5 años detectándose una prevalencia del 27,7 % (Achkar G, Maidana C, Candiotti C. III Jornadas Técnico-Científica, Fac. de Bioq. Y Cs. Biológicas, 11-14 mayo 1999, UNL Santa Fe) Nuevamente en el año 1993 se realizó este estudio a niños menores de 5 años verificándose una disminución de la prevalencia al 7,9 (Achkar G, Maidana C,

Candiotti C. III Jornadas Técnico-Científica, Fac. de Bioq. Y Cs. Biológicas, 11-14 mayo 1999, UNL Santa Fe). En el año 1997 el Programa Provincial de Chagas y el Servicio Nacional realizaron tareas de control vectorial, bajo la estrategia de la "participación comunitaria", en donde la comunidad juega un rol importante en dicho control. En el año 1999, una vez concluidas estas actividades, el Programa Provincial de Red de Laboratorio realizó un estudio serológico a niños menores de 15 años, del cual se obtuvieron los siguientes resultados:

Estudio serológico niños menores de 15 años 1999									
Edad	0 – 4 años			5 – 9 años			10 – 14 años		
Distrito	N	+	%	N	+	%	N	+	%
Garabato	71	2	2,8	97	7	7,6	61	17	28

Analizados los resultados concluimos: 1) Que existe una relación entre las prevalencias obtenidas en el año 1987 (27,7 %) para niños menores de 0–4 años y en el año 1999 (28 %) para niños de 10–14 años, la misma conclusión se obtiene para el estudio del año 1993 (7,9 %) para niños menores de 0–4 años y 1999 (7,6%) para niños de 5–9 años. 2) El descenso de la prevalencia en los niños menores de 5 años desde 1987 (27,7%), 1993 (7,9%) y 1999 (2,8%), nos indica que los trabajos realizados por el Prog. Prov. de Chagas, Servicio Nacional de Chagas, y el Prog. Prov. de Red de Laboratorio, fueron muy positivos para el control vectorial y fundamentalmente para disminuir el número de niños infectados

**EPI10. Género *Toxocara*: contaminación con huevos en plazas y paseos de Santa Fe.** ANZAUDO MM, GUTIERREZ CE Y MARTÍN UO.

*Cát de Parasitología. Centro de Inv. sobre Endemias Nacionales. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas. UNL. Paraje El Pozo. CU. 3000 Santa Fe. Argentina. E-mail: umartin@fcb.edu.ar*

El género *Toxocara* comprende dos especies patógenas para el ser humano: *Toxocara canis* y *Toxocara cati*. *T. canis* es quien produce con mayor frecuencia enfermedad en el hombre. El hábito de llevar mascotas a las plazas promueve la contaminación del suelo con materia fecal de perros y gatos que pueden contener huevos de *Toxocara*, viables por varios meses o años. En el presente trabajo se determinó el grado de contaminación con huevos de *Toxocara* en espacios públicos, donde es habitual la presencia de animales domésticos. Se colectaron y analizaron muestras de materia fecal de perros y de arena de espacios verdes, en distintas zonas de la Ciudad de Santa Fe, San José del Rincón, Alto Verde y Barrio El Pozo. En un total de 200 muestras, 62 (31,0%) fueron positivas para el género *Toxocara*. Se observó una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre el porcentaje de positividad obtenido en Santa Fe (26,6%) y el obtenido en los distritos aledaños (45,7%): Estos resultados muestran un nivel de contaminación importante en los espacios públicos, los cuales son frecuentados por la población infantil. Nos proponemos estudiar la factibilidad de vehicular estrategias de prevención que permitan evitar el riesgo de infección en las diferentes etapas del ciclo biológico del parásito.

**EPI11. Prevalencia de infección chagásica en menores de 15 años - Dpto General Obligado - Provincia de Santa Fe, 1999.** NEPOTE M\*\* ACHKAR G\*, MANATTINI S\*

*\*Prog. Prov. De Red de Laboratorio, \*\*Prog. Provincial de Chagas, Santa Fe.*

El Departamento General Obligado está ubicado en la zona nordeste de la Provincia de Santa Fe, es considerado de mediana endemicidad para infección chagásica. En este departamento desde 1997, se reiniciaron las actividades de control vectorial, coordinadas por el Programa Provincial de Chagas y el Servicio Nacional de Chagas. Las mismas consisten en un rociado de vigilancia, a diferencia del rociado de ataque realizado en la zona centro norte de los departamentos 9 de Julio y Vera. Una vez terminada esta actividad, se comenzó con la etapa de control serológico a niños menores de 15 años que residen en esta zona, actividad a cargo del Programa Provincial de Red de Laboratorios. Los niños detectados con infección chagásica fueron tratados con antiparasitario específico (Benznidazol).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes.

Prevalencia de menores de 15 años, Dto. General Obligado, 1999

Edad 0-4 años			Edad 5-9 años			Edad 10-14 años		
N	(+)	%	N	(+)	%	N	(+)	%
142	3	2,1	498	10	2,0	600	22	3,7

N: total de extracciones, (+) niños positivos, % porcentaje de positivos.

Conclusiones: Al no observarse diferencia entre la prevalencia encontrada en el grupo etario de 0-4 años y la de 5-9 años, podemos inferir que las tareas de control realizadas hasta la fecha resultaron insuficientes o no se efectuaron con la continuidad necesaria. Por lo tanto deben reforzarse las actividades de la estrategia de vigilancia epidemiológica para eliminar la transmisión vectorial, además de las dirigidas a controlar las formas de transmisión no vectorial (congénita y transfusional)

**EPI12. Acciones de control vectorial desarrolladas en la Provincia de Santa Fe, 1996-1999.** NEPOTE M\*, SPILLMANN C\*\*, GONZALEZ M\*\*, BLANCO S\*\*.

\*Programa Prov de Chagas. Bv. Pellegrini 3550 3000 Santa Fe. \*\*Servicio Nac de Chagas.

Desde el año 1996, el Servicio Nacional de Chagas y el Programa Provincial de Chagas, reiniciaron las actividades de control vectorial en la Provincia de Santa Fe en forma conjunta, bajo la estrategia de la "participación comunitaria", implementada desde 1992 por el Programa Nacional de Chagas. En las zonas de alta endemicidad se realizaron rociados de ataque con dos ciclos, en la zona de mediana y baja endemicidad se realizó, primero una evaluación entomológica y luego rociados de ataque y/o selectivos de acuerdo a los índices de infestación hallados. Estas acciones se desarrollaron con la participación activa de la comunidad, la que previamente fue capacitada en las actividades de control, por los técnicos del S.N.Ch. de Sta. Fe y Tucumán, en toda la zona endémica se capacitaron 2166 líderes comunitarios en 510 integraciones comunitarias. Posteriormente al tratamiento químico de las viviendas, se instaló la vigilancia utilizando el "biosensor" o la búsqueda activa del poblador de rastros o triatominos dentro de la vivienda. En este período se trataron 14325 viviendas del área endémica de la Pcia. Se observó una marcada disminución de los índices de infestación respecto a los obtenidos en los períodos: '88 y '92, y se logró la vigilancia en 39706 viviendas que representan el 62.91% del área endémica.

1988		1992		1996-1999	
viv. evaluada.	% de infestac.	viv. evaluada	% de infestac.	Viv evaluada	% de infestac.
14045	7.02	6591	7.92	29587	3.13

Conclusiones: 1) A través de la estrategia de Participación Comunitaria, se multiplicaron los efectores, incrementándose así la cobertura del área de riesgo. 2) Se logró una cobertura y sostenimiento de la vigilancia activa sin precedentes en la Pcia. 3) La disminución de los índices de infestación refleja el impacto de las acciones de control en los últimos 10 años. Las actividades deben tener una continuidad en el tiempo para consolidar la disminución de los índices de infestación.

**EPI13. Leishmaniasis tegumentaria canina: evolución de las lesiones y carga parasitaria.** PADILLA AM, MARCO JD, DIOSQUE P, MALCHIODI E, FERNANDEZ M, MARINCONZA y BASOMBRÍO MA.

Laboratorio de Patología Experimental. Fac de Cs de la Salud, UNSa, 4400 Salta.

En diversas zonas de la provincia de Salta, endémicas para la Leishmaniasis Tegumentaria Americana (LTA), realizamos un estudio para determinar la prevalencia de esta enfermedad y la evolución de las lesiones en 202 perros convivientes con casos humanos de esta enfermedad. Un 28,22% de los perros (57/202) presentaban serología positiva por ELISA empleando antígenos que descartan las posibles reacciones cruzadas con Chagas. Todos los perros con lesiones (20,29%) presentaban serología positiva. A 33 perros que presentaban o desarrollaron lesiones, se les hizo un seguimiento promedio de 10 meses; en 12 de esos perros (36,4%) las lesiones se mantuvieron sin variar de tamaño; en 10 perros (30,3%) se originaron nuevas; en 4 (12,12%) aumentaron de tamaño; en 4 (12,12%) las lesiones originales cicatrizaron, pero aparecieron nuevas y solo en 3 (9,1%) cicatrizaron y no se registró la aparición de nuevas lesiones. Un 60,6% (20/33) de los perros a los que se les hizo el seguimiento, presentaban lesiones en las orejas. El análisis parasitológico de 25 extendidos de lesiones, dio un resultado positivo en un 56% (14/25). El tiempo empleado para llegar a un diagnóstico positivo, fue en promedio 6 veces mayor para muestras caninas que para muestras humanas y el promedio de parásitos por campos fue 14 veces menor en perros. Existe una alta prevalencia por serología de LTA en los perros y un porcentaje significativo presentan lesiones, pero debido a la escasez de parásitos presentes en las lesiones, el perro no desempeñaría un papel principal como reservorio doméstico de la LTA en las áreas estudiadas.

Agradecemos a los Drs. N. Taranto, L. Canini y N. Mércuri. Este trabajo se realizó con ayuda del CIUNSA y CONICET

**EPI14. Relevamiento parasitario en tierras de plazas de La Plata. Buenos Aires.** GAMBOA I, PEZZANI B, MINVIELLE M, CIARMELA L, ROCCIA I, BASUALDO J.

Cat. de Microbiol y Parasitología. FCsMédicas. UNLP. La Plata 1900 Buenos Aires.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la frecuencia de elementos parasitarios en muestras de tierra obtenidas de 10 plazas públicas de la ciudad de La Plata.

Método: Se realizó un análisis estadístico previo que determinó como unidad de muestreo las tierras cercanas a 4 árboles tomados al azar, por hectarea. Se relevaron 8 plazas de 1

héctarea y 2 plazas de 2 hectáreas. La toma de muestra se realizó durante los meses de Marzo y Abril. Se retiró la hojarasca superficial de un cuadrado de 20 cm. de lado y se tomó la tierra raspando no más allá de los 2 cm. de profundidad. Las muestras se transportaron en bolsas plásticas cerradas. En el laboratorio, se procesaron siguiendo la técnica modificada de Dada y Lindquist. La observación microscópica se realizó entre porta y cubreobjetos a diferentes aumentos. Resultados: El 100% de las plazas evaluadas resultaron positivas para la presencia de elementos parasitarios. El 90% de las mismas presentaron huevos de helmintos, el 50% quistes de protozoos y el 100% larvas de nematodos. Los parásitos encontrados con mayor frecuencia fueron: *Ascaris lumbricoides* (90%), *Toxocara canis* (50%), *Entamoeba coli* (40%) y *Giardia lamblia* (40%). Conclusión: El elevado porcentaje de plazas contaminadas con elementos parasitarios indican el riesgo potencial de transmisión de las parasitosis a partir de tierra de paseos públicos en nuestro medio; y la necesidad de implementar medidas de prevención y control que eviten este riesgo.

**EPI15. Estudio retrospectivo: Frecuencia y asociaciones parasitarias encontradas en heces de pacientes atendidos en los últimos 40 años.** SALOMÓN C, TONELLI R, BORREMANS G, BERTELLO D, MANA C.

Cátedra de Parasitología. F.C.M., U.N. de Cuyo, Parque Gral. San Martín. 5500 Mendoza

Objetivo: conocer la evolución de la frecuencia y asociaciones parasitarias en pacientes con diagnóstico presuntivo de parasitosis intestinal. Materiales y Métodos: las muestras (5/ paciente) se recogieron hasta el año 1963 en termos; desde entonces se utilizaron envases de vidrio o plástico. Se realizó examen macroscópico (tamizado), examen microscópico directo y enriquecimiento por Telleman mod. Resultados: resultados de años tomados al azar.

año	Nº pacientes	negativos	positivos	% parasitados
1958	2471	1158	1313	53.1
1963	Faltan datos			
1968	720	490	230	31.9
1973	945	670	275	29.1
1978	1013	747	266	26.2
1983	1089	364	259	41.6
1988	623	364	259	41.6
1993	614	480	194	31.6

Las especies más frecuentes fueron *Entamoeba coli*, *Giardia intestinalis*, *Chilomastix mesnili*, *Trichomonas hominis* (hasta el año 1060), *Endolimax nana*, *Blastocystis hominis*, *Enteromonas hominis*, *Hymenolepis nana*, *Taenia sp.*, *Iodamoeba bütschlii*, *Trichuris trichiura*. Los porcentajes variaron de año en año manteniendo el orden mencionado. Las asociaciones más frecuentes fueron: *E.coli-G.intestinalis*; *E. Coli-E. nana*; *E. coli-Ch. mesnili*; *G. intestinalis-E. nana*; *G. intestinalis-H. Nana* conclusión: los parámetros comparados sufren fluctuaciones en los 40 años estudiados, sin observarse notables disminuciones a pesar de existir tratamientos efectivos, lo que evidencia la falta de programas de control para las parasitosis intestinales que creemos indispensable implementar.

**EPI16. Presencia de parásitos en muestras ambientales.** SANCHEZ P, RASO S, TORRECILLAS C, CORDOBA M, MINVIELLE M<sup>1</sup> Y BASUALDO JA<sup>1</sup>.

Dpto. de Bioquímica U. N. de la Patagonia - Km 4 - Com. Rivadavia 9000 Chubut, <sup>1</sup>Cát. de Microbiol. y Parasitol Fac. Cs. Médicas U.N. de La Plata

El objetivo del presente estudio fue estimar la prevalencia de parásitos en muestras ambientales para el período invernal en la ciudad de Rada Tilly (45° lat. Sur - Patagonia Argentina). Las condiciones ambientales predominantes en dicho período son: clima árido y seco, con 5°C de temperatura promedio y vientos frecuentes e intensos del oeste. A tal fin se efectuó un estudio transversal en tres de las cinco plazas de la ciudad (4100 habitantes). Se recolectaron al azar, en un muestreo por conglomerados, 10 muestras de materia fecal canina y 5 muestras de suelo por plaza y se censó el número total de heces halladas. Las heces se fijaron con formaldehído 5% y se concentraron por medio de la técnica de flotación de Willis y de sedimentación de Telemán. En las muestras de suelo se determinó pH y conductividad (20°C) sobre el extracto del mismo y humedad por gravimetría a 105°C. Una alícuota de 2 gramos, previo secado y tamizado, se procesó por técnica de flotación de Sheather y sedimentación de Telemán y Formol - Acetato. Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado. La prevalencia de muestras positivas fue del 36% (11/30) en materia fecal canina y del 47% en muestras de suelo (7/15). Los parásitos hallados en materia fecal fueron: *Tenia sp.* 10% (3/30, huevos); *Uncinaria sp.* 23% (7/30, larvas) y *Coccidios sp* 3% (1/30, ooquistes). En suelo se encontró: *Nematodes sp.* 20% (3/15, larvas); *T. canis* 7% (1/15, huevos) y *Coccidios sp.* 20% (3/15, ooquistes). El pH de las muestras positivas osciló entre 7,35 y 7,83, la conductividad promedio fue de 373,3 uS/cm y la humedad promedio fue de 0,89% (0,64-1,20%). El grado de contaminación con heces fue variable, resultando una media de 42 heces/plaza. Los resultados indican la persistencia de formas parasitarias en condiciones ambientales adversas, no óptimas para algunos de los géneros hallados. Siendo las parasitosis una expresión de la relación huésped - medio - ambiente, el porcentaje de muestras positivas halladas evidencia la importancia de las medidas de control tendientes a disminuir el grado de contaminación biológica con heces caninas de los espacios públicos.

**EPI17. Estrategia interdisciplinaria, con participación comunitaria, para la prevención de la endemia chagásica en una comunidad mocoví. Resultados preliminares.** STREIGER ML, DEL BARCO ML, ARIAS ED, CIVETTA A, BERTOTTI E, MASI R, TEREZIANI MC, ALBORNOZ MC, FRANCIA R, TIVANO V, FERNANDEZ I, CAMARGO J, SALTEÑO D, GOMEZ M, MENDICINO D, MENDOZA N.

CIEN, FBioq y Cs Biol. UNL, CC 242, 3000 Santa Fe. Esc. Servicio Social, Sec. Est. Promoción Comunitaria. Esc. Psicol. Social "Dr Pichón Riviere". Comuna y efectores sanitarios de Col Dolores.

Experiencia desarrollada en Colonia Dolores, 150 km al norte de Sta Fe Capital, (1997 y continúa), población mayoritariamente mocoví, de 500 habitantes. Investigaciones previas (94) mostraron 30% de población con infección chagásica. Motivó profundizar el estudio desde una perspectiva interdisciplinaria (Bioquímicos, Médicos, Trabajadores Sociales, Psicólogos Sociales, Miembros de la comunidad). Objetivos - Investigar factores de riesgo de infección chagásica. - Implementar acciones con participación comunitaria para su control. Métodos - Estudios Biológicos (Serología para Chagas - Electrocardiogramas) - Psico - socio- culturales (Entrevistas en

profundidad-Encuestas) - Desarrollo de estrategias participativas (Talleres-Cine debate) Los hallazgos cualitativos complementan datos cuantitativos. Resultados Sexología: disminución de la prevalencia, desde 94 a la fecha. No se halló infección en niños: 1 a 4 años. (Factores que explicarían este dato: Plan de erradicación de ranchos; intervención de agentes sanitarios del lugar en la prevención de la endémica; control vectorial por Programa Provincial; intervención del equipo interdisciplinario). Recolección de ~400 vinchucas por los pobladores, en domicilios y peridomicilios. La población se identifica con etnia mocoví. Reconoce a Col. Dolores como zona de vinchucas. Posee saberes parciales con relación a Chagas. No lo identifican como problema de salud prioritario. Lo asocian con: vinchuca, sangre, problemas cardíacos. Acciones de fumigación fueron realizadas, anteriormente, por agentes externos a la comunidad. Conclusiones preliminares: Se observa apropiación de nuevos saberes con relación a Chagas. Indicios de organización comunitaria y aumento de protagonismo institucional con relación a la problemática (Dispensario - Comuna -Escuela). Mayor articulación entre Programa Provincial de Chagas y comunidad de Colonia Dolores.

#### EPI18. Incidencia de Paludismo en Dptos. de la provincia de Salta, años 1994-1998. ZAIDENBERG MO.

*Programa Nacional de Paludismo, (PRONAPA). Gral. Güemes 125. CP 4400, Salta.*

El objetivo de este trabajo es describir la incidencia de paludismo (tasa por 10.000) en los departamentos de la provincia de Salta, de acuerdo a la notificación registrada en el PRONAPA entre los años 1994 / 1998.

DEPTOS/ AÑOS	94 n° - %00	95 n° - %00	96 n° - %00	97 n° - %00	98 n° - %00
ANTA	28-43.9	10-15.5	21-32.4	6-9.2	2-3.0
CAPITAL	14-0.3	26-0.6	27-0.6	7-0.2	7-0.2
CERRILLOS	1-0.5	0-0	0-0	2-0.9	0-0
GUEMES	30-8.0	10-2.6	28-7.2	2-0.5	3-0.7
S MARTIN	471-40.8	560-47.4	1080-89.3	238-19.3	173-13.7
GUACHIPAS	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
IRUYA	4-6.4	20-31.1	7-10.6	10-14.9	1-1.5
LA CALDERA	0-0	1-2.4	3-7.1	0-0	0-0
LA VIÑA	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
METAN	1-0.28	0-0	43-12.0	0-0	0-0
ORAN	251-23.0	238-21.3	441-38.7	215-18.4	63-5.3
R. FRONTERA	1-3.6	0-0	1-0.4	1-0.3	2-0.7
R. LERMA	1-0.4	0-0	1-0.3	1-0.3	0-0
STA.VICTORIA	25-21.2	40-32.9	22-17.5	5-3.9	32-23.9

San Martín, Orán y Santa Victoria son los que evidenciaron en forma consistente las tasas de infección más altas. Anta e Iruya mantuvieron niveles moderados. Algunos, como La Viña y Metán, mostraron esporádicamente tasas elevadas relacionadas con epidemias locales. La mayoría de los casos estuvo constituida por trabajadores rurales y asociada con movimientos migratorios internacionales y locales

#### EPI19. Enfermedad de Chagas congénita. Alto riesgo de transmisión en los hermanos de casos positivos. SANCHEZ NEGRETTE O, MARCO JD, MORA MC y BASOMBRI MA.

*Laboratorio de Patología Experimental. F Cs de la Salud. UNS. Buenos Aires 177, Salta.*

La provincia de Salta, se encuentra en Estado de Vigilancia Epidemiológica, pero es muy importante considerar la presencia de esta enfermedad en mujeres en edad fértil que cur-

san la fase crónica, quienes pueden transmitir la infección a sus hijos intrauterinamente. Describimos aquí el hallazgo de una alta prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi*, de muy probable origen congénito, realizado cuando nos propusimos analizar los hermanos de Recién Nacidos en que se sospecha ésta enfermedad. Se realizó un estudio serológico, parasitológico y epidemiológico en 14 familias, todas con madre chagásica y con un promedio de 5,07 hijos por familia. En 5 de las familias ya se había verificado 1 caso congénito. Se constató que la infección por *Trypanosoma cruzi* se aglomeraba en determinadas familias, de modo tal que habiendo un hermano infectado, era probable encontrar más infectados en la familia. El número de infectados/total estudiado por familia fue 0/3, 0/5, 0/5, 0/5, 0/4, 0/7, 0/7, 1/3, 1/6, 2/4, 2/4, 2/5, 3/4, 5/9. En ninguna de éstas viviendas existe el riesgo de transmisión vectorial desde hace más de quince años, estando estas bajo el control de Centros de Salud. Los hermanos que resultaron positivos no fueron transfundidos, y no habrían viajado a zona de riesgo entomológico. No encontramos diferencias significativas entre familias positivas y negativas, en lo referente a sexo, nivel socioeconómico, edad de los niños, ni edad de la madre. El Riesgo de contraer Chagas Congénito, para el neonato de madre infectada, fue de 5,2%. Para el hermano de infectado congénito, fue de 31%. Conclusión: La eficiencia de detección de Chagas congénito aumentaría en un factor de 2,57 si a la normativa de estudiar al recién nacido de madre chagásica, se agrega la de analizar todos los hermanos del niño infectado nacidos y por nacer. Agradecemos a: CIUNSa, FONCYT, MSP de Salta y Centros de Salud N° 15, 6 y 55

#### EPI20. Normatización del Control Perinatal en dos Maternidades de la Ciudad de Sta Fe. KOCH G\*, NEPOTE MC\*\*.

*\*Htal. J.B.Iturraspe, Boulevard Pellegrini 3550, Sta Fe.  
\*\*Programa Prov de Chagas - Santa Fe.*

En el año 1997 se determinó que un porcentaje importante de las embarazadas que concurrían a las maternidades de los Hospitales J.B. Iturraspe y J.M. Cullen de la ciudad de Santa Fe, no tenían realizado el control perinatal para Chagas, por lo tanto los hijos de esas madres tampoco estaban controlados para esta patología. Debido a esto, el Programa Provincial de Perinatología y el Programa Provincial de Chagas diseñaron una estrategia para mejorar este control. La estrategia se basó en la difusión de las Normas Provinciales de control Perinatal a través de "Ateneos Perinatales", desarrollados mensualmente en las dos maternidades. Participó personal de ambos servicios, de la Zona V de Salud y de los dos Programas Provinciales, los mismos tenían como objetivo la búsqueda de los problemas para realizar los controles y la solución de los mismos. Luego de dos años de trabajo obtuvimos los siguientes resultados:

	Enero - 1997		Enero - 1999	
	%madres controladas	Madres positivas	%madres controladas	Madres positivas
H. Cullen	37	3	100	9
H. Iturraspe	68,4	13	96,6	17

Conclusiones: Con la implementación de los Ateneos Perinatales se logró controlar el 100% de las Embarazadas del Hospital Cullen y el 96,6% del Hospital Iturraspe, lográndose detectar más madres positivas, de 3 (1997) a 9 (1999) en el Hospital Cullen y de 13 (1997) a 17 (1999) en el Hospital Iturraspe. Por lo tanto consideramos que esta estrategia es una herramienta apropiada para mejorar el control perinatal en las

maternidades de la Provi de Sta Fe. El Programa Provincial de Perinatología y el Programa Provincial de Chagas tienen como meta mejorar este control en toda la Provincia de Sta Fe, para lo cual es necesario el compromiso del personal de todas las maternidades, como así también, del personal de las ocho Zonas de Salud de Sta Fe

**EPI21. Antigenicidad de los virus influenza causales de brotes epidémicos en 1996, 1997 y 1999.** CAMARA JA, VARGAS IP, MONTBRUN M, LATTINI M, CORDEIRO PINTO E Y KNEZ V.

*Centro Nacional de Influenza, Inst. de Virología "Dr. J. M. Vanella", FCM UNC- Enf. Gordillo Gómez S/N - Ciudad Universitaria - 5016 Córdoba*

**Objetivos:** Detectar los virus influenza circulantes en Córdoba y otras provincias del radio de acción del Centro Nacional y caracterizar, la estructura antigénica de las nuevas variantes, comparativamente con los virus referentes internacionales. **Materiales:** Especímenes: Hisopados o aspirados nasofaríngeos (HNF ó ANF). **Métodos:** Aislamiento de virus: en huevos embrionados de gallina y cultivos de células MDCK. Inmunofluorescencia Indirecta: Detección de Antígenos virales en células de HNF, ANF, líquidos amnióticos o alantoideos de huevo y cultivos de MDCK infectadas. **Análisis antigénico:** Pruebas de Hemaglutinación (HA) e Inhibición de la Hemaglutinación. **Resultados:** Los virus que circularon en 1996 y 1997 fueron caracterizados como Influenza A(H3N2) similares al A/Wuhan/359/95 y A/Sydney/05/97 respectivamente. Las cepas A/Córdoba/3278/96, A/Mendoza/1/96, A/Santa Fe/208/96 y A/Córdoba/3384/97, se consideraron causales de los brotes epidémicos estudiados en Córdoba, Mendoza y Santa Fe. Durante Julio y Agosto de 1999, co-circularon en Córdoba, virus influenza tipos A y B. Los virus A/Córdoba/3572/99 (H3N2) y B/Córdoba/3695 se consideraron causales del brote epidémico. El virus A(H3N2) está relacionado a la cepa A/Sidney/359/97 y el virus B, es similar a la cepa B/Beijing/184/93. Los virus de 1997 y 1999, aislados en huevos, requieren mayor número de pasajes por cavidad amniótica, indicando que la población viral estaría constituida por partículas en fase "O". Asimismo, modificaron sus propiedades hemaglutinantes al poseer mayor afinidad por los eritrocitos humanos y de cobayo que por los de pollo en las reacciones de HA y Hemadsorción. **Conclusiones:** Las cepas virales A(H3N2) causales de los brotes epidémicos de 1996 y 1997, en Córdoba, Mendoza y Santa Fe, son disímiles de la cepa A/Johanesburg/33/94 y A/Wuhan/359/95 que integraron la fórmula vacunal de 1996 y 1997. En 1999, la cepa A/Córdoba/3572/99 (H3N2) es similar a la integrante de la fórmula vacunal para 1998-1999

**EPI22. Epidemiología de la Rabia en el Noroeste Argentino.** CAILLOU SL, RIVADENEIRA MA.

*División Zoonosis, Sistema Provincial de Salud, Mate de Luna 1935 4000 Tucumán*

El diagnóstico se efectúa por inmunofluorescencia directa y prueba biológica en ratones. Se han procesado en el laboratorio 350 animales muertos con síntomas semejantes a los producidos por rabia en el período 1995 - Julio 1999. Se diagnosticaron 19 casos positivos que correspondían: Tucumán 5 (1995-96-97), Jujuy 7 (97-98), Salta 6 (96-98-99) y Santiago del Estero 1 (95). El último caso positivo en la capital de Tucumán se produjo en 1993, los 5 positivos corresponden al interior. En 1998 y 99 no hubo ningún caso positivo en Tucumán. Algunas muestras positivas se enviaron al Instituto Panamericano para la Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ) para su caracterización molecular. Es imprescindible mantener

un laboratorio de diagnóstico para el Noroeste Argentino y personal capacitado en las distintas provincias para actuar de acuerdo a las normativas de la Organización Mundial de la Salud. Los diferentes integrantes de los Programas de Control de la Rabia en el país deben evaluar permanentemente sus actividades. En el caso de los laboratorios es necesario efectuar controles de calidad por organismos nacionales y/o internacionales. Ninguna comunidad tiene excusas para evitar el control de la rabia cuando hay vacunas eficaces y de bajo costo"

**EPI23. Resultados coparasitológicos solicitados al Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica de la Provincia de Formosa durante 1998.** BLANCO M, CACERES L, FANTIN M, y ROMPATO K.

*Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica, José M Uriburu 651, 3600 Formosa.*

**Objetivos:** estudiar la parasitosis en niños de 0 a 13 años, determinar la prevalencia y su relación con edad y sexo, hematocrito, hemoglobina, eosinofilia y morfología de la serie roja. Los métodos fueron: a) observación en Directo, T. de Graham, Willis y sedimentación-centrifugación; b) realización del hemograma por métodos manuales y ópticos. **Resultados:** Se trabajó con 186 pacientes, de los cuales 50 % fueron de sexo femenino y 50% de sexo masculino. Los parasitados fueron 104 (57%), 50% fueron niñas y 50% varones. La mayor cantidad de muestras (154), como de positivos (75) correspondió a edades de 0 a 5 años, en tanto que del grupo entre 6 y 11 años se obtuvo 32 muestras, 59,4% positivas. Predominó Giardia I. (27,4%) y su asociación con otros parásitos (37,6 %). Se realizaron 176 Graham, 24,3%, positivos. El 57% correspondió a niños menores a 2 años. Se observó una mayor cantidad de Graham positivos a medida que se incrementa la edad. En algunos barrios predominaron los protozoarios y en otros los helmintos. Se realizaron 112 hemogramas, 60,2% del total. Las muestras se agruparon en: protozoarios, helmintos, protozoarios + helmintos y negativos. En ninguno de los grupos se observó predominio de eosinófilos; 31,6% presentaron hemoglobina menor a 10 g/l y 33,7% con hemoglobina de 10 a 12 g/l. De los parasitológicos negativos el 31,6% presentó hemoglobina menor a 12 g/l. Un 67% de las muestras analizadas tenían microcitosis y 43,8 % hipocromía. **Conclusiones:** El 56% de las muestras fueron positivas. El parásito prevalente fue Giardia I. 66%. La prevalencia de Graham positivos se vio en niños mayores de 3 años. La distribución de protozoarios y helmintos no fue uniforme en los barrios. La eosinofilia no fue exclusiva de los distintos grupos. No se pudo concluir que la hemoglobinemia menor a 12 g/l. fuera exclusiva de los parasitados.

**EPI24. Influenza en Argentina, 1965 - 1999.** 1994 - 1999 KNEZ V, CAMARA JA, VARGAS IP, CUMINO A, UEZ O, LATTINI M. MONTBRUN M, MICELI I y RIVA POSSE C, 1988 - 1993 KNEZ V, VARGAS IP, MINETTI G. Y UEZ O, 1981 - 1987 KNEZ V, IRIZAR M Y VARGAS IP, 1970 - 1980 RIVADENEIRA JC, KNEZ V, FAIN BINDA JC, IRIZAR M Y VARGAS IP., 1965 - 1969 RIVADENEIRA JC, KNEZ V, MICHREFF J, ZAPATA M y VARGAS IP.

*Centro Nacional de Influenza - Instituto de Virología "JM Vanella"- FCM - UNCórdoba Enf. Gordillo Gómez S/N - Ciudad Universitaria - 5016 Córdoba*

El estudio sistemático de la influenza en Argentina comenzó en 1964 en el Instituto de Virología JM Vanella" de la UNCórdoba, después de ser designado Centro Nacional de Influenza por la OMS. El grupo de trabajo, aplicó el sistema

de vigilancia con áreas centinelas, complementado por estudios clínicos, epidemiológicos y virológicos de cada brote que ocurría entre Abril y Octubre de cada año. Los datos epidemiológicos están basados en curvas de morbilidad y ausentismo derivadas de infecciones similares a influenza, en grupos de pacientes de diferentes edades, atendidos en cinco centros centinelas de la ciudad de Córdoba. El laboratorio de influenza también estudió muestras recogidas por el grupo en otras provincias, tales como Mendoza, San Juan, San Luis o por médicos centinelas de Tucumán, Jujuy, Santa Fe, Rosario, Trelew y otras. Desde 1965 los datos de laboratorio están basados sobre el aislamiento de virus a partir de HF, HNH y/o ANF (Huevos embrionados y cultivos celulares), serología (Inhibición de la Hemaglutinación) y detección por IFI ó ELISA de antígenos para el virus influenza y otros virus respiratorios. La actividad de Influenza en el período analizado, indica que el virus influenza A(H2N2) causó epidemias en 1965, 1967 y 1968. El virus A(H3N2) resurgió en 1968 y desde entonces causó brotes epidémicos de diferente magnitud en 1969, 1970, 1972, 1973, 1974, 1976, 1977, 1980 1990, 1993, 1995, 1996, 1997 y 1999. El virus A(H1N1) resurgió después de 20 años en 1978 y originó otros brotes en 1979, 1987 y 1992. El virus influenza B, estuvo asociado a brotes epidémicos en 1966, 1969, 1971, 1973, 1988, 1991, 1995 y 1999. Influenza C fue aislado e identificado en 1971 en niños. Las cepas B/Córdoba/156/66 y A/Córdoba /3021/92(H1N1) fueron propuestas para integrar la fórmula vacunal de los años 1967 y 1993 respectivamente

**EPI25. Seroprevalencia de Hepatitis B en Aborígenes de la Provincia de Formosa.** RODRIGUEZ C<sup>1</sup>, LAVERGNE O<sup>1</sup>, PANKOW G<sup>1</sup>, MURACCIOLE D<sup>2</sup> y BASUALDO M<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Lab. Vig. Epidemiológica - CEDIVEF, J.M.Uriburu 651, 3600, Formosa.<sup>2</sup> Dto. Bioquímica. Ministerio de Desarrollo Humano de Formosa, H. Irigoyen 235, Formosa.

Objetivo: Estudiar la prevalencia de la infección por el virus de Hepatitis B (HBV) en una población aborigen de la provincia de Formosa. (Fsa.) Materiales y Métodos: Se estudiaron dos grupos poblacionales, residentes en el interior de Fsa.: 1) Menores de 11 años: 227 varones (V) y 218 niñas (N); 2) entre 12 y 75 años: 402 hombres (H) y 408 mujeres (M); cada grupo se subdividió en intervalos etáreos. En las muestras de suero se buscó, mediante la técnica ELISA, IgG contra el antígeno de core (anti-HBc-IgG) y antígeno de superficie (HBsAg), en los casos anti-HBc-IgG (+) y HBsAg (-) se buscó el anticuerpo contra el HBsAg (anti-HBs). Resultados: De los 445 menores de 11 años, 17 presentaban anti-HBc-IgG (+): 7 (V) mayores de 4 años y 10 (N) entre 2 y 11 años. Ninguno de los (V) presentó HBsAg ni anti-HBs(+), mientras que 5 (N) fueron HBsAg (+) y ninguno presentó anti-HBs. De los 810 individuos del 2º grupo, 48 eran anti-HBc-IgG (+): 26 (H) y 22 (M). Del grupo de reactivos 11/26 (H) y 14/22 (M) tenían entre 12 y 25 años, presentando HBsAg (+) 2 de cada sexo y anti-HBs 4 (H) y 6 (M). Conclusiones: La prevalencia de infección en menores de 11 años fue del 3,9% y en los mayores de 12 fue del 5,9%. No se encontraron diferencias entre ambos sexos. Se observó un aumento de la infección en el 1º grupo a partir de los 4 años de edad, lo cual indicaría que no sólo existiría transmisión vertical sino también horizontal. En el 2º grupo, el mayor porcentaje de infectados se observó en el intervalo de 13 a 25 años, lo cual se sumaría a las demás vías de transmisión sexual. En cuanto a la evolución de la infección, el 50% de las (N) resultaron HBsAg (+), mientras que en los adultos se observó anti-HBs (+), coincidiendo esto con la bibliografía acerca del 90% de adultos que resuelven la infección. Considerando que la población estudiada fue aborigen, sería relevante determinar el

genotipo circulante, y poder determinar si se trata de un virus autóctono, de circulación cerrada y transmisión perpetua.

**EPI26. Vigilancia epidemiológica de Rotavirus. Segundo premio.** Bok K (INEI), BORSA A y CAGNOLI R (UC La Plata), NATES S y TREGNHAGI M (UC Córdoba), CASTAGNARO NR y DIAZ N (UC Tucumán), ESPUL C y ABATE H (UC Mendoza), GRINSTEIN S y GONZALEZ F (UC Buenos Aires), FAY O y BRUNET B (UC Rosario), FABRI A y SCARAFIA A (UC Resistencia), MICELI (MsyAS), GOMEZ J (INEI).

Ante la posible disponibilidad de una vacuna contra rotavirus (RV), en 1996 se puso en funcionamiento un Programa de Vigilancia de Diarreas por RV. Se presenta un análisis parcial de los 2 primeros años de funcionamiento del Programa. Se analizaron 16916 internaciones en <3 años y 2882 fueron por diarrea aguda, con una mediana del 11,0% (rango 26,9%- 4,4%). Se identificó RV en 549 (42,4%) de los 1296 casos de diarrea analizados, con un rango de 52,9%- 22,5%. La diarrea por RV fue observada durante todo el año con un pico entre los meses de Abril y Junio (ambos años) que llegó al 66% de los casos. La internación por RV fue mayor en el primer año de vida. De los 549 casos de diarrea por RV observados, el 66,7% (366 casos) fue de 0-11 meses, el 26,0% (143 casos) fue de 12-23 meses y el 7,3% (40 casos) fue de 24-35 meses de vida. Esta situación es de relevancia dado que la vacuna aprobada y recomendada para su uso masivo en los EEUU en Agosto de 1998, se aplica en 3 dosis entre los 2-6 meses de edad, por lo que podría prevenir la mayoría de los casos observados. Además, durante el primer año de vigilancia los serotipos más encontrados fueron G2 (49.6%) y G1 (27.7%), mientras que durante el segundo año fueron los tipos G1 (50.7%) y G4 (26.9%). Se encontraron cepas inusuales como la P[6]G9 (3.8%) y P[8]G5 (1%) durante el 2do año, y P[6]G9+G2 (3.2%) y una cepa P[4]G2+G5 (1%) no presentes en la vacuna. Dado que la mayoría de las cepas identificadas pertenecen a uno de los 4 serotipos presentes en la vacuna, la misma parece tener la composición adecuada para su utilización en nuestro país. Sin embargo, las variaciones observadas cada año a hacen necesario la instalación de un sistema de vigilancia epidemiológica constante de las cepas de rotavirus prevalentes. Rotavirus es el principal agente productor de diarrea infantil aguda en nuestro país y es llamativa la casi nula implementación de su diagnóstico en hospitales pediátricos. El reconocimiento de su importancia e incorporación de su diagnóstico posibilitará un mejor manejo del paciente, del uso de la antibioticoterapia, del control de la diarrea intrahospitalaria, y una mejor asignación de recursos para un enfermedad que puede ser prevenida. La incorporación de esta vacuna es compleja y requiere mayor información. Para llegar a una decisión racional se necesitará la evaluación del impacto de la enfermedad en todo el país y un adecuado análisis costo-beneficio.

**EPI27. Causas de Diarrea en el departamento de Tupungato, Mendoza. Años 96, 97 y 98.** BERDUCCI OC, SENAR JF, ALCAIDE E, ADI MS.

Hospital Gral Las Heras - Las Heras y Monseñor Fernández -Tupungato provincia de Mendoza.

Objetivos: - Conocer la magnitud de la enfermedad diarreica en el departamento de Tupungato (Mendoza). - Conocer cuál es la característica socio-demográfica de las personas.- Conocer cuál es la prevalencia de los principales patógenos involucrados. - Demostrar la alta participación de Giardia lamblia en cuadros diarreicos. - Demostrar la necesidad de un tratamiento adecuado para las diarreas causadas por éste pa-

rásito. – Conocer la sensibilidad de los Antibióticos usados. - Estimular con el conocimiento del mismo para que en el departamento se organicen adecuadas políticas de salud y evitar la propagación de la enfermedad. Material y Métodos: Marcha bacteriológica. Examen Macroscópico. Examen Microscópico. Cultivo. Identificación del microorganismo aislado. Antibiograma. Estadística epidemiológica quincenal, planilla L 2 (casos de diarreas confirmados bacteriológicamente) y estadística epidemiológica semanal, planilla C2 (casos de diarreas confirmados por exámen médico). Resultados: Se estudiaron 556 Coprocultivos, años epidemiológicos 96, 97 y 98, se aislaron Enteropatógenos en 408 muestras (73,38%); año 96= 188 (46,02%), año 97= 148(36,27%) y año 98= 73(17,89%). Se estudiaron tasas de Prevalencia por año y por Enteropatógeno, casos de diarreas por Giardia lamblia en los distintos distritos y casos de diarreas agudas atendidos en el Hospital Gral Las Heras y los seis Centros de Salud del departamento.(3.986 casos años epidemiológicos 96-97 y 98). Conclusiones: Las tasas más altas de Prevalencia de diarreas por Enteropatógenos se registraron para el año 96, registrándose un descenso marcado en el año 97 y 98. Los Enteropatógenos encontrados con mayor Prevalencia fueron Shigella flexneri, E. coli EPEC, Giardia lamblia, Sh. sonnei, Salmonella sp y Campylobacter en orden decreciente. Se registró un incremento de Salmonella spp en el año 98. Los índices más elevados de diarreas agudas se observaron en los meses de Febrero, Marzo, Abril y mayo. La mayoría de los casos ocurrieron en niños menores de 4 años y los factores más asociados fueron la desnutrición y deshidratación. La población rural fue la más afectada.

**EPI28. Participación de Giardia Lamblia en cuadros Diarreicos, Tupungato, Mendoza Años 96, 97y 98.**  
BERDUCCI OC, SENAR JF, ALCAIDE E, ADI MS.

*Hospital Gral Las Heras - Las Heras y Monseñor Fernández -Tupungato Mendoza.*

Objetivos: Evaluar el grado de participación de Giardia lamblia en cuadros diarreicos y demostrar que es el enteroparásito encontrado con mayor frecuencia en muestras solicitadas como parasitológico seriado de materia fecal, en el departamento de Tupungato (Mendoza). Material y Métodos: En el laboratorio del Hospital Gral Las Heras de Tupungato (Mendoza) se examinaron muestras de materia fecal fresca remitidas con solicitud de Coprocultivo para la búsqueda de gérmenes enteropatógenos. De rutina a estas muestras se les realizó una observación microscópica directa entre portaobjetos y cubreobjetos con solución de Lugol para la identificación de elementos parasitarios, empleando aumentos de 100 x y 400 x. De la misma forma se examinaron muestras solicitadas como parasitológico seriado de materia fecal. Resultados: Se realizaron 556 Coprocultivos, años epidemiológicos 96, 97 y 98. Se observaron enteroparásitos en 75 ocasiones (13,49%). Giardia lamblia se observó en 46 ocasiones (61,33%). La presentación fue en 39 muestras como único hallazgo, en cuatro ocasiones asociado a otro parásito y sólo en dos ocasiones asociado a otros gérmenes enteropatógenos. Se estudiaron casos de diarreas por Giardia, por edad, y por distrito. Se examinaron 2.177 muestras solicitadas como Parasitológico seriado de Materia Fecal correspondientes a los años epidemiológicos 96, 97 y 98. Se observaron elementos parasitarios en 763 ocasiones (35,04%). Giardia lamblia se observó en 466 ocasiones (61,07%). Se realizaron estudios de Prevalencia. Conclusiones: Es muy importante buscar la presencia de Giardia lamblia en Coprocultivos, debido a que el mismo se encuentra en muy alto porcentaje en diarreas como único responsable. La tasas de

Prevalencia más altas fueron para niños menores de 4 años. Los distritos más afectados fueron El Zampal, El Cordón del Plata y La Arboleda. Mayor número de casos en el año 97. Queda demostrado que Giardia lamblia es el enteroparásito encontrado con mayor frecuencia en muestras solicitadas como Parasitológico seriado de Materia Fecal. Produce importantes patologías, por lo que sugerimos un adecuado tratamiento.

## Inmunología: INM

**INM1. Regulación positiva de la respuesta Th1 por antígenos de Fasciola hepatica.** CERVI L, CHIAPELLO L y MASI H DT.

*Parasitología y Micología. Depto Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria, 5000 Córdoba.*

En trabajos anteriores nosotros observamos un período de supresión transitorio de la respuesta proliferativa a mitógenos en células mononucleares de bazo (CMB) de ratas infectadas con *F. hepática* a los 7 días pi. Concomitantemente en ese período encontramos un marcado incremento de citoquinas Th2 tales como IL-10 e IL-4, disminución en la producción de IL-2 y óxido nítrico (NO) por células peritoneales (CP). El objetivo del presente trabajo fue investigar la capacidad de los antígenos que componen el homogenato total de *F. hepática* (HT), para modular la respuesta Th1-Th2 en animales inmunizados. Se inocularon ratas Wistar por vía sub-cutánea con 1,6 mg/ml de HT (sobrenadante 10.000 g del homogenato de gusanos adultos) emulsionado en adyuvante de Freund completo (AFC) en 2 dosis durante 30 días. Se determinó la respuesta proliferativa de CMB de animales inmunizados frente a Con A, por la incorporación de timidina tritiada y la producción de citoquinas TNF $\alpha$ , IL-2 e IL-10 en el sobrenadante de cultivo de CMB (ELISA de captura). Se investigó además la producción de NO por CP de animales inmunizados (reacción de Griess). Se observó un aumento significativo de la respuesta proliferativa a Con A en CMB de animales inmunizados respecto de los normales ( $p < 0.03$ ), e incrementó la producción de TNF $\alpha$  e IL-2 en el sobrenadante de cultivo de estas células respecto de las normales ( $p < 0.01$  y  $p < 0.007$  respectivamente). Por el contrario, la producción de IL-10 estuvo significativamente disminuída en el sobrenadante de CMB de animales inmunizados ( $p < 0.02$ ). Por otra parte las CP de los animales inmunizados presentaron un incremento en la producción de NO respecto de los animales normales ( $p < 0.04$ ). Los resultados demuestran que los antígenos presentes en el HT del parásito resultan inductores de una respuesta con perfil Th1, la cual podría ser protectora para el huésped, como así también el incremento en la producción de NO por macrófagos peritoneales podría ser beneficioso en el control de la infección.

**INM2. IL-12 e IFN-g en la etapa crónica de la infección experimental con Trypanosoma cruzi.** ANTUNEZ MI, ABRAMI AA, CARDONI RL.

*Instituto Nacional de parasitología Dr. M. Fatała Chaben ANLIS, Av. P. colón 568, 1063, Bs. As*

La respuesta inmune Th1 participa en la resistencia y podría estar involucrada en el desarrollo de la cardiomiopatía chagásica. Encontramos que los niveles séricos de IL-12 e IFN-g aumentan en la infección aguda y se mantienen altos a pesar del descenso de la parasitemia. Estudiamos la pro-

ducción de IL-12 e IFN- $\gamma$  por ELISA de captura, en ratones BALB/c y C3H crónicamente infectados con *T. cruzi*, cepa Tulahuén. Estos difieren en su susceptibilidad al desarrollo de la patología crónica, sólo los C3H presentan una intensa reacción inflamatoria tisular. Los niveles séricos de IL-12 p40 fueron en C3H  $1,9 \pm 0,4$  y en BALB/c  $2,2 \pm 0,2$  ng/ml, similares a los de la etapa aguda; el IFN- $\gamma$  sólo aumentó en los BALB/c (Normales  $\leq 0,04$ , Crónicos  $3 \pm 1$  ng/ml). La liberación de IL-12 p40 por células de bazo, espontánea o con LPS, incrementó en las dos cepas, aunque las concentraciones fueron mayores en los BALB/c. Por otro lado, no se detectó producción de IFN- $\gamma$  en las células de los C3H, aun al ser estimuladas con Con-canavalina A e IL-2. A diferencia de la fase aguda, en la crónica la respuesta Th1 no se acompaña del aumento sistémico de NO y PGs, lo que podría explicar la falta de asociación entre la producción de citoquinas proinflamatorias y el daño tisular en la fase crónica de la infección. Financiado: CONICET, ANLIS Malbrán y FONCYT PICT 05-00139-02330.

**INM3. TIA (Trans-sialidase Inhibition Assay) un test altamente sensible para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas.** BUCHOVSKY AS<sup>1</sup>, CAMPETELLA O<sup>2</sup>, PITCOVSKY T<sup>2</sup>, RUSSOMANDO G<sup>3</sup>, ODDONNE R<sup>3</sup>, CANDIA N<sup>3</sup>, FRANCO L<sup>3</sup>, LUQUETTI A<sup>4</sup>, RASSI A<sup>4</sup>, GONZÁLEZ CAPPA SM<sup>1</sup> Y LEGUIZAMÓN M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dto. Microbiol., Fac. Med., UBA, <sup>2</sup>Inst. Invest. Biotecnol. UNSAM, Bs. As., Argentina. <sup>3</sup>Inst. Invest. Cs Salud, UNA, Asunción, Paraguay. <sup>4</sup>Inst. Patol. Trop. Saude Publ., UFG., Goiania, Brasil.

TIA se basa en la detección de anticuerpos neutralizantes (Ac.Nt.) de la actividad de trans-sialidasa (TS). TS está ausente en *T. rangeli*, *Leishmania* sp y *Plasmodium* sp. Los Ac.Nt. están presentes en sueros de pacientes crónicos y agudos. TIA utiliza TS recombinante que se preincuba con el suero problema y luego se mide la capacidad remanente de transferir grupos siálicos de sialilactosa a lactosa-C<sup>14</sup>. Como control negativo se utilizan sueros humanos normales y su valor de inhibición se considera 0%. De 90 muestras de pacientes chagásicos crónicos ensayadas al presente, el 100% fue TIA positivo. Dado que TIA parece ser una técnica altamente sensible, se utilizó para analizar un grupo de sueros particularmente problemáticos en su diagnóstico. Se analizaron: a) sueros de aborígenes paraguayos con alto riesgo de infección pero parasitológica y serológicamente negativos por ensayos convencionales, b) sueros «borderline» de Paraguay, c) sueros de pacientes con megavisceras idiopáticas y cardiopatías de Brasil y Paraguay. Los resultados fueron: a) de 32 sueros de aborígenes, el 59% fue TIA positivo. Analizados por «dot-spot» con los antígenos recombinantes SAPA, Ag1, Ag2, Ag30, sólo 4 sueros fueron simultáneamente positivos por dot-spot y TIA. Los que resultaron TIA negativos también lo fueron por «dot-spot». b) de 36 casos «borderline», el 70% fue TIA positivo, c) del grupo de pacientes con megavisceras idiopáticas (n=24) y cardiopatías (n=4) dos muestras de regiones endémicas, una de cada país, fueron TIA positivo. Se ensayó también la capacidad de TIA para discriminar entre sueros infectados con *Leishmania* sp y *T. cruzi*. Sueros de pacientes con leishmaniosis cutáneas (n=29) resultaron todos TIA negativos. Sin embargo, aquellos infectados con *T. cruzi* y *Leishmania* sp (n=10) fueron positivos por TIA y "dot-spot". Concluimos que TIA es una técnica altamente sensible, capaz de detectar muestras que por otros ensayos serológicos hubiesen sido consideradas negativas.

**INM4. Oligonucleótidos CpG mejoran la respuesta TH1 contra antígenos de *Trypanosoma cruzi*.** CORRAL RS y PETRAY PB.

Lab. Virología, Hospital de Niños R. Gutierrez, Gallo 1330, 1425 Buenos Aires.

Se ha comprobado que oligodesoxinucleótidos sintéticos que contienen dinucleótidos CpG no metilados dentro de un contexto particular de bases (CpG-ODN) son capaces de inducir la activación de linfocitos B, células NK y monocitos, así como la secreción de inmunoglobulinas y citoquinas de respuesta TH1. Considerando la participación de estos mecanismos en la resistencia a la infección experimental aguda por *T. cruzi*, se evaluó en un modelo murino el potencial de CpG-ODN como adyuvante para la inmunización con antígenos de este parásito. Se inmunizaron por vía intramuscular ratones BALB/c (sesgo a TH2) con antígeno homogenato total de *T. cruzi* (HT) mezclado con: a) CpG-ODN (10 ó 100 mg/dosis); b) ODN sin CpG (igual dosis); c) hidróxido de aluminio (25 mg/dosis). Los animales que recibieron HT con CpG-ODN presentaron por ELISA títulos de anticuerpos séricos específicos para *T. cruzi* entre 5 y 20 veces mayores que aquellos inmunizados con HT solamente o en combinación con ODN carentes de motivos CpG. El isotipo predominante de inmunoglobulinas fue IgG2a en los ratones inmunizados con HT y CpG-ODN. Por otra parte, en dichos animales se indujo un perfil de citoquinas TH1. Se verificó por ELISA en sobrenadante de cultivo de 72 hs que los esplenocitos de animales inmunizados con HT y CpG-ODN secretaban principalmente IFN- $\gamma$  ( $52,4 \pm 3,9$  ng/ml) e IL-12 ( $703,6 \pm 99,3$  pg/ml) con escasa producción de IL-4 ( $4,3 \pm 1,2$  pg/ml). Los niveles séricos de IFN- $\gamma$  e IL-12 en este grupo también fueron significativamente ( $P < 0,0001$ ) mayores que los observados en ratones inmunizados con HT solo o co-administrado con hidróxido de aluminio u ODN sin capacidad inmuno-estimulante. Se concluye que estos datos preliminares reflejan el potencial de los CpG-ODN para modular hacia una respuesta TH1 contra antígenos de *T. cruzi*, lo cual los convierte en candidatos a ser evaluados como adyuvantes de vacunas.

**INM5. Ensayos de inmunización con parásitos vivos de una cepa atenuada de *Trypanosoma cruzi*, transfectados con genes de IL-2 e IFN- $\gamma$**  PADILLA AM, BUCKNER F, VAN VOORHIS W y BASOMBRIO MA.

Laboratorio de Patología Experimental, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires 177, 4400 Salta.

La primoinfección por el parásito *Trypanosoma cruzi*, se ve favorecida por una incapacidad para producir una respuesta inmunitaria eficaz por parte del hospedador, que podría deberse a una secreción deficiente de IL-2 e IFN- $\gamma$  en el sitio de la infección. Para confirmar esta hipótesis, se obtuvieron clones de una cepa atenuada de *T. cruzi* transfectados mediante la introducción de las secuencias que codifican para IL-2 e IFN- $\gamma$ . Se realizaron dos experimentos de inmunización y desafío en ratones Swiss, mediante dos inóculos conteniendo 10<sup>6</sup> epimastigotes de cultivo de las cepas transfectadas, y el posterior desafío con tripomastigotes Tulahuén. Como control negativo, se utilizó la misma cepa de *T. cruzi* transfectada con un gen no secretor de citocinas (gen de la b-galactosidasa). Se midieron las reacciones de Hipersensibilidad Retardada (DTH) y las parasitemias. En todas las experiencias, se detectó un claro efecto protector, pero no se observó un incremento de este efecto con los parásitos transfectados con genes de citocinas, con respecto al control. Del mismo modo, no se ob-

servó una mayor respuesta inmunitaria al medirse las reacciones de DTH en el lugar de la inoculación del desafío. En conclusión, el agregado de estos genes de citocinas a una cepa atenuada de *T. cruzi*, cuyos epimastigotes vivos son utilizados como un inmunógeno experimental, no parece aumentar la respuesta inmunitaria ni la protección parcial con respecto a un control transfectado con un gen que no codifica para citocinas.

Agradecemos el apoyo técnico de los Sres. A. Uncos, F. Ramos y R. Rossi. Este trabajo fue subsidiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y por el Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta.

**INM6. Estudio de la evolución de la avidez de los anticuerpos en un modelo experimental de infección por *Trypanosoma cruzi*.** MARCIPAR IS\*, RISSO\* MG, SILBER AM\* REVELLI S\*\* Y MARCIPAR AJ\*

\*INTEBIO, Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas, Univ. Nac. Litoral, CC 530, Ciudad Universitaria Pje. El Pozo, 3000 Santa Fe, Argentina. \*\*Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Univ. Nac. Rosario, 2000 Rosario, Argentina.

La utilización de una técnica ELISA modificada para el análisis de la evolución de la avidez de los anticuerpos a lo largo de procesos infecciosos puede ofrecer nuevas herramientas para el seguimiento del proceso patogénico. En otras protozoosis sistémicas, como la toxoplasmosis, esta información ya está siendo utilizada con propósitos de diagnóstico. En el presente trabajo estudiamos con las técnicas mencionadas los cambios en la avidez de los anticuerpos en la infección chagásica utilizando un modelo experimental con ratas infectadas con *T. cruzi*. Proponemos también una técnica basada en el Western Blot combinada con análisis de avidez a efectos de identificar antígenos que generan anticuerpos de alta y de baja avidez. Se pudieron identificar bandas definidas. Concluimos que en nuestro sistema experimental los anticuerpos que evolucionan hacia una alta avidez lo hacen solamente en la fase crónica de la infección. También demostramos que solamente los anticuerpos correspondientes a determinados antígenos, correspondientes a 21, 30, 45, 60 y 75 kD maduran hacia altos valores de avidez, manteniéndose los restantes anticuerpos en valores de avidez constantes. Finalmente, identificamos que un antígeno de *T. cruzi* de 97 kDa que es reconocido por anticuerpos de alta avidez en ratas control.

**INM7. Utilización de histona H3 como antígeno específico para el diagnóstico de leishmaniasis.** TARANTO NJ<sup>1</sup>, SEMBAJ A<sup>2</sup>, SOTO M<sup>3</sup>, REQUENA JM<sup>3</sup> ALONSO CA<sup>3</sup> Y MORENO JM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Enfermedades Tropicales de la Univ Salta, <sup>2</sup>Cát Quím Biol. Fac. Cs. Médicas. UNC. <sup>3</sup>Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Madrid, España.

El serodiagnóstico de las leishmaniasis representa una alternativa a la detección directa del parásito. Se han desarrollado un gran número de procedimientos inmunológicos con el fin de analizar respuestas inmunes humorales o celulares para un diagnóstico específico de la infección por *Leishmania*. La sensibilidad y especificidad de tales métodos depende del tipo, fuente y pureza del antígeno empleado, ya que algunos de ellos presentan epitopos comunes con proteínas de otros hemoparásitos. En el presente trabajo nos propusimos evaluar por ELISA, el potencial valor diagnóstico del antígeno H3 de *Leishmania*, para identificar leishmaniasis humana. Esta molécula ha sido caracterizada como antígeno prominente durante

la infección por este parásito. Se utilizaron 30 sueros de pacientes positivos mediante frotis del borde de la lesión y por intradermo reacción de Montenegro, que asistieron al Inst de Investig Enferm Trop, (Univer Salta). Se utilizaron como controles 10 sueros de pacientes chagásicos confirmados por tests serológicos y 20 sueros de pacientes normales sin historia clínica de enfermedades infecciosas. Para la prueba de ELISA se utilizó como antígeno la histona H3 recombinante (2mg/ml). Los sueros se ensayaron diluidos 1:500 y como segundo anticuerpo se empleo antisuero frente a IgG humana marcado con peroxidasa, diluido 1:2000. La reacción se reveló empleando como sustrato o-fenildiamina (0,67mg/2mg), cuya absorbancia se leyó a 490nm. Las reactividades de los grupos estudiados mostró títulos mas altos en los pacientes con leishmaniasis ( $x=0,66, SD 0,05$ ) con diferencia significativa  $p<0,01$  respecto de los pacientes con Chagas y los sanos ( $x=0,35, SD 0,04$   $yx=0,33, SD 0,05$  respectivamente. En conclusión, los sueros de pacientes con leishmaniasis cutánea presentan anticuerpos frente a la histona H3 de leishmania. Esta proteína podría representar una herramienta con valor diagnóstico para identificar leishmaniasis, en especial en áreas endémicas superpuestas con Chagas.

## Clinica y Tratamiento: CLI

**CLI1. Hallazgo de rotavirus en Formosa.** RODRIGUEZ C<sup>1</sup>, COLOMBO M<sup>1</sup>, BOK K<sup>3</sup>, GOMEZ J<sup>3</sup>, MURACCIOLE D<sup>2</sup> Y BASUALDO M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lab. Vig. Epidemiológica-CEDIVEF, J.M. Uriburu 651, 3600 Formosa. <sup>2</sup>Dto. Bioquímica. Ministerio de Desarrollo Humano de Formosa. H. Irigoyen 235, Formosa. <sup>3</sup>ANLIS.-Malbrán, Av. Vélez Sarsfield 563 1281, Buenos Aires.

Objetivo: Por ser Rotavirus (RV) la causa más común de diarrea infecciosa aguda en infantes, se trató de evidenciar su presencia en muestras de materia fecal en la ciudad de Formosa (Fsa.). Materiales y Métodos: En el período comprendido entre mayo de 1998 y abril de 1999 se estudiaron 100 muestras de materia fecal provenientes de pacientes de distintos barrios de la ciudad que presentaban diarrea aguda, con evolución menor a horas, edades que oscilaban entre 30 días y 30 años, que fueron distribuidos en distintos intervalos de edad. La técnica utilizada para la búsqueda de RV fue electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), visualizando los patrones electroforéticos del RNA viral. Las muestras positivas (+) fueron enviadas al ANLIS. para su tipificación mediante la técnica de PCR y/o ELISA con anticuerpos monoclonales. Resultados: De 100 muestras de diarreas, 67 se observaron en menores de 3 años de edad. Del total de muestras 11 fueron (+) para RV, de las cuales 7 se diagnosticaron en niños menores de 1 año. En el mes de mayo se observó la mayor cantidad de RV, 7/11. Hasta la fecha la tipificación de 6 muestras revelaron el serotipo 1 en 4 muestras, serotipo 4 en 1 muestra y serotipo 1+4 en 1 muestra. Conclusiones: RV mostró una frecuencia del 11% en las diarreas estudiadas por PAGE, siendo ésta una técnica de baja sensibilidad. En coincidencia con otros autores, la mayor incidencia de diarreas fue en menores de 3 años de edad (67%). El mayor porcentaje, 63,6%, de diarreas por RV se registró en niños menores de 1 año. Existió una fluctuación estacional notoria en otoño, principalmente en el mes de mayo. El serotipo de mayor incidencia fue el 1 (66,6%), no obstante se sugiere continuar con los estudios para establecer el serotipo de importancia epidemiológica en la provincia y poder así evaluar la utilidad de la vacuna aprobada en EE.UU. en agosto de 1998.

**CL12. Caso Clínico: Ameboma hepático.** CHAMORRO M, MARTIN G, CARLÉS A, ENRIQUEZ E, AGUIRRE J.

Hospital Pediátrico "A.L. Castelán", Juan B. Justo 1150, 3500 Resistencia, Prov. del Chaco.

Introducción y propósito: la amebiasis humana es una parasitosis causada por la *Entamoeba histolytica*, localizada en colon, y que en ocasiones puede invadir el hígado. El objetivo de este trabajo es la presentación de un caso de absceso hepático amebiano, inusual en la zona. Enfermedad actual: niña de 5 años de edad, eutrófica, derivada del interior por "absceso subfrénico o hematoma subcapsular". Como antecedentes refería fiebre y dolor en hipocondrio derecho de 2 semanas de evolución. Resumen semiológico y evolución: al ingreso moderado compromiso general, hepatomegalia a 4 cm reborde costal, con dolor en dicha zona. Fiebre que evoluciona en picos. Hemograma con anemia moderada, hepatograma normal, ecografía con imagen de absceso de 6 x 5 cm en lóbulo hepático derecho. Arco 5 negativo. Parasitológico directo con giardias, estrongiloides y trofozoitos de *E. histolytica*. Se medica con antiparasitarios y metronidazol endovenoso, a los 5 días cede la fiebre, buena evolución clínica. Cumple 12 días endovenoso y luego vía oral. A los 15 días se da alta. A la semana del alta se repite ecografía no hallándose imágenes patológicas. Parasitológico en fresco negativo. Discusión y conclusiones: el absceso hepático puede ser piógeno, hidatídico o neoplásico, debido al aislamiento de trofozoitos en materia fecal, y a la buena respuesta clínica, se concluye en esta paciente el diagnóstico de amebiasis hepática.

**CL13. Evaluación de la eficacia del tratamiento antiparasitario específico, en infectados chagásicos crónicos, mediante la detección de anticuerpos líticos.** FABBRO D<sup>1</sup>, REVELLI S<sup>2</sup>, STREIGER M<sup>1</sup>, HOURQUESCOS M<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Invest sobre Endemias Nacionales, FBioq y Cs Biol, UNL, Ciudad Universitaria, 3000 Santa Fe. <sup>2</sup>Inst de Inmunología, FCs Médicas, UNR, Santa Fe 3100, 2000 Rosario. <sup>3</sup>Dept. de Bioquímica Clínica, FCs Bioq y Farmacéuticas, UNR, Suipacha 531. 2000 Rosario.

La serología convencional no ha sido útil para evaluar la eficacia del tratamiento antiparasitario específico en infectados chagásicos crónicos adultos, pues permanece positiva años después de finalizado el mismo y, los métodos parasitológicos tradicionales tienen escasa sensibilidad en esta etapa. La desaparición de anticuerpos líticos ha sido utilizada como indicador de cura parasitológica. Objetivo: determinar la presencia de anticuerpos líticos en infectados chagásicos crónicos adultos, tratados y no tratados con nifurtimox o benznidazol, y evaluar correlación con los títulos serológicos por IFI. Método: se procesaron en forma simultánea por IFI, 89 sueros de chagásicos crónicos. 38 correspondían a tratados y 51 a no tratados. En 59 sueros se realizó el test de lisis mediada por complemento: 33 de pacientes tratados y 26 de no tratados. Los resultados se evaluaron estadísticamente. Resultados: Por IFI, el 86% de infectados crónicos tratados presentó títulos  $\geq 1/64$  y el 62% de no tratados  $\geq 1/128$ . Se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.005$ ) entre los títulos de Ac por IFI, de pacientes tratados (media geométrica=49,36) y no tratados (media geométrica=98,25). Aunque se observó disminución de títulos serológicos, éstos permanecieron positivos en el 95% de los pacientes tratados. Se demostró la presencia de Ac líticos en el 15% (5/33) de los pacientes tratados y en el 69% (18/26) de los no tratados. Conclusiones: Si bien fue mayor la presencia de anticuerpos líticos en pacientes no tratados respecto a los tratados, la sensibilidad del método (69,23%) no demostró

ser suficiente para determinar la desparasitación del infectado chagásico crónico. Se halló correlación ( $p < 0.005$ ) entre títulos serológicos por IFI y presencia o no de Ac líticos.

**CL13. Evaluación de la actividad tripanomicida de la biplumbagina (8, 8 bi 2-metil, 5-hidroxi, 1,4 naftoquinona) en ratones con infección chagásica aguda.** LÓPEZ QUIROGA I, NASSER J, ANGELO BARRIOS A, RAMOS F y BASOMBRÍO MA.

Cát de Química Biológica, F. Cs. Nat y Lab de Patología Experimental, Fac. Cs de la Salud, UN Sa, Buenos Aires 177, 4400 Salta y SELADIS, La Paz, Bolivia.

El tratamiento de la enfermedad de Chagas en fase aguda se realiza con benznidazol (BZL) (N-benzil-2-nitroimidazolacetamida) siendo prácticamente inefectivo durante la fase crónica, además puede producir efectos colaterales y existen pacientes con sensibilidad al mismo. Una alternativa es el estudio de la actividad tripanomicida de productos naturales. En este trabajo evaluamos la actividad tripanomicida de la biplumbagina (biPBG) en ratones experimentalmente infectados con *Trypanosoma cruzi* realizando estudios de parasitemia directa a intervalos de 48-72 horas y serológicos por ELISA a intervalos semanales. Para ello se infectaron tres grupos (gr) de ratones Swiss con 2000 tripomastigotes sanguíneos de *T. cruzi* cepa Tulahuén. Los ratones recibieron los siguientes tratamientos a partir del día 12 postinfección: gr 1 (n=10): Inóculo i.p. de biPBG (5 mg/Kg peso/día) en DMSO 5%/30 días; gr 2 (n=10): administración oral de BZL (200mg/Kg peso/día)/30 días; gr 3 (control positivo) (n=10): Inóculo i.p. de PBS-DMSO 5%/30 días. Se observó reducción estadísticamente significativa de las parasitemias de los ratones del gr 1 a los días 20, 23, 27, 30, 35 y 37 respecto del gr 3 ( $p=0,0012$ ), mientras que el tratamiento con BZL (gr 2) eliminó la parasitemia de los ratones. Los resultados de ELISA sobre homogenato proteico de *T. cruzi* no mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (días 18, 27, 28, 46 y 60), a excepción de los días 46 y 60 para los tratados con BZL. Los resultados demuestran la capacidad que posee la biplumbagina de reducir la carga parasitaria de los ratones infectados sin afectar la producción de anticuerpos del tipo IgG.

Subsidiado por el Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta.

**CL15. Influencia de la lactancia en el valor diagnóstico de la serología diferida del niño en la enfermedad de Chagas Congénita.** MARCO JD, SÁNCHEZ NEGRETTE O, MORA MC, SEGURA MA, RAMOS F, NASSER JR y BASOMBRÍO MA.

LaPE. Fac. Cs. de la Salud. UNSa. Buenos Aires 177. Salta.

En la provincia de Salta, área vigilada epidemiológicamente, se está llevando a cabo la evaluación de varios métodos para diagnosticar la enfermedad de Chagas Congénita, en hijos de madres seropositivas. En un trabajo anterior de nuestro grupo (Mora MC y cols. Mem. Inst. O. Cruz, 89:[sup] p. 158, 1994) se demostró en ratones la decisiva influencia de la lactancia sobre el mantenimiento de anticuerpos (Ac) en hijos de madres infectadas. El objetivo de este trabajo es determinar si esto también ocurre en humanos, para poder precisar las normativas diagnósticas. Se analizaron niños sin infección congénita demostrable (microstrout, hemocultivo y PCR negativos) a los que se realizó la serología diferida al sexto y al duodécimo mes de vida con las técnicas de HAI y/o ELISA. Todos poseían datos confiables sobre su amamantamiento. La distribución de

los pacientes para cada título de HAI encontrada al 6º mes fue la siguiente: Grupo A (amamantados):  $<1/4=19$ ;  $1/8=3$ ;  $1/16=6$  y  $1/32=1$ . Grupo B (no amamantados):  $<1/4=8$  y  $>1/4=0$ ; ( $p=0.057$ ). Al 12º mes todos (mamaran o no), dieron resultado  $<1/4$ . La serología por ELISA dio positiva en 7/31 (22.58 %) para el grupo A y 0/7 (0%) para el grupo B al 6º mes. Al 12º mes todas se negativizaron. Entre los meses 6 y 12 se encontró, grupalmente, una disminución paralela del amamantamiento y del título de Ac. Además, analizando caso por caso, al 6º mes sólo se detectaron Ac en niños que se amamantaban. Ambas evidencias indican que, en el ser humano, la transferencia pasiva de Ac anti *Trypanosoma cruzi* por leche es importante y que las serologías positivas no deben considerarse diagnósticas de infección en el niño lactante de 6 meses de vida.

Subsidiado por CIUNSA y FONCYT.

**CLI6. Parásitos intestinales en niños de un asentamiento precario, Detección pre y post tratamiento.** PEZZANI B, MINVIELLE M, GAMBOA I, BASUALDO JA.

Cat. de Microb y Parasitología. Fac. Cs. Médicas. UNLP. Calle 60 y120. La Plata 1900 Bs.As.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de parasitosis intestinales (PI), instaurar la terapéutica adecuada y evaluar su eficacia en niños de un asentamiento precario del partido de La Plata, provincia de Buenos Aires. Se estudiaron 40 niños de 0 a14 años de edad. El registro de los datos se realizó mediante una encuesta efectuada al grupo familiar con el propósito de caracterizar los aspectos ambientales, socioeconómicos y culturales de la comunidad. Las muestras fueron recolectadas realizando seriados parasitológicos de materia fecal y escobillado anal. Los pacientes parasitados fueron tratados con Mebendazole y Tinidazole con dosis establecidas según el peso y la edad. A los 6 meses del tratamiento se efectuó el control parasitológico. Del total de niños, el 82,5%, tuvieron parasitológicos positivos en el análisis pre y post-tratamiento.

Los especies halladas con mayor frecuencia fueron *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Hymenolepis nana* y *Giardia lamblia*. En los análisis pre y post tratamiento los niños monoparasitados fueron 36,36% y 21,21%; los biparasitados 30,30% y 33,33%; los triparasitados 27,27% y 13,33%; los tetraparasitados 6,60% y 12,12% respectivamente. Conclusiones: la población estudiada reveló una alta prevalencia de P.I. Aunque se implementó el tratamiento antiparasitario, no se observó una disminución significativa en la prevalencia de parasitosis.

El tratamiento antiparasitario realizado no resulta efectivo sin la implementación de programas de saneamiento ambiental y de educación para la Salud.

**CLI7. Casos clínicos de Chagas congénitos de un Hospital de alta complejidad de la ciudad de Santa Fe.** TOMBOLATO ELENA., NEPOTE M.

Hospital de Niños "O. Alassia", Mendoza y Av. Mosconi 3000 Santa Fe.

Se estudiaron siete pacientes con sospecha de Chagas congénito. Tres de estos pacientes fueron atendidos en forma ocasional por otra patología, con el antecedente de madre Chagas positiva. Este grupo presentaba: Peso adecuado, buena conducta alimentaria, hepatomegalia discreta, ictericia leve con aumento de bilirrubina total, bilirrubina directa mayor de 2 mg%, resto del examen físico normal. Se realizó búsqueda de pará-

sitos, Microstrout o Microhematocrito, confirmándose el diagnóstico y realizando el tratamiento correspondiente. El otro grupo de cuatro pacientes presentaba el siguiente cuadro: Bajo peso para edad gestacional, inicio del cuadro con distensión abdominal, vómitos biliosos, hepatoesplenomegalia, trastornos hemorrágicos (KPTT prolongado, suero lacado, plaquetas disminuidas), ictericia a predominio de directa, infecciones sistémicas coexistentes (*Klebsiella* y *Cándida*). En el ingreso los tenían LCR normal. A los 4-5 días, sin haberse diagnosticado aún Chagas congénito los cuatro presentaron apneas, motivando maniobras de reanimación o asistencia respiratoria mecánica. Se realizó una 2da punción lumbar (PL), encontrándose en tres elementos entre 43 y 203 a predominio de poliformo nucleares, glucorraquia normal, proteínas aumentadas entre 2,40 y 7,7 gr/lt. Se detectó T.cruzi, en LCR, en un solo paciente. Un paciente convulsionó y el LCR era normal. Como secuelas observadas se hallaron, trastornos oftalmológicos severos en los tres, a los que se le realizaron fondo de ojo; hipoacusia sensorial bilateral severa en dos pacientes (los otros dos no fueron evaluados), uno de ellos cursó con LCR normal. Estos cuatro pacientes quedaron con retraso psicomotriz severo, trastornos neuromotrices y severa discapacidad. Conclusiones: Realizar diagnóstico de chagas a todo hijo de madre chagásica. Dado el bajo número de pacientes evaluados, proponemos continuar con los estudios, para verificar si existe una relación entre las alteraciones auditivas y oftalmológicas, y chagas congénito.

## Bioquímica y Biología Molecular: BQBM

**BQBM1. Trans-splicing en *Trypanosoma cruzi*: análisis de las secuencias requeridas para el procesamiento de la región intergénica del locus TcP2b.** BEN-DOV C, LEVIN MJ, VAZQUEZ M.

INGEBI - CONICET, FECyN-UBA.

El proceso de Trans-splicing (TS) es una reacción intermolecular en la cual una secuencia de 39pb, denominada "Spliced Leader" (SL) se transfiere al extremo 5' de cada mRNA de los Tripanosomatidos. Como en el cis-splicing, las secuencias involucradas en el TS son: 1) Un dinucleótido aceptor AG, 2) Un tracto de polipirimidinas (pPy) de longitud variable ubicado 5' del AG y 3) Un sitio de branch, para el cual no se ha hallado aún una secuencia consenso. Las interacciones entre estas secuencias y otras (ej: 5' UTR) son claves en la eficiencia del TS y los niveles finales de mRNA, dado que no existe regulación al nivel de la iniciación de la transcripción. Para profundizar el conocimiento sobre el TS y la regulación post-transcripcional en *T.cruzi*, se analizó la región intergénica del gen de TcP2b (proteína ribosomal) denominada HX1. Esta tiene: 1) Un único AG aceptor, 12 bases río arriba del AUG y 8 bases río abajo del primer pPY, 2) tres pPY de 15, 8 y 21pb y, 3) delante de cada pPy una o dos As, como posibles sitios de branch. Para determinar la importancia de cada elemento realizamos mutagénesis dirigida mediante PCR, para generar tres construcciones, para ser medidas en transfecciones transientes y estables utilizando el gen CAT como "reporter": a) Ag0, en la cual el AG aceptor queda a 20 pb del primer pPY, b)HX1gg, donde las dos As anteriores al pPY de 21 fueron cambiadas a Gs, y c) DUTR, para determinar la influencia de la región 5'UTR, reemplazamos las 12pb de HX1 por la región 5' al ATG del gen CAT. Los resultados muestran que todas las mutaciones tuvieron un importante efecto en la actividad de CAT, Ag0 bajo a 13%, HX1gg a 21%, DUTR a 41% de eficiencia respecto de

HX1 wt. Estos resultados indican que la distancia del AG aceptor al pPY es importante, que las As mutadas probablemente estén involucradas en el proceso de branch, y que las 12pb del 5' UTR participarían en los niveles finales del mRNA. Finalmente el mapeo de la adición del SL al AG aceptor reveló que tanto para Ag0 como en DUTR se utiliza siempre el primer AG que encuentra luego del pPY.

**BQBM2. Puesta a punto de la reacción en cadena de la polimerasa competitiva para la cuantificación de ADN de *Trypanosoma cruzi* circulante en pacientes chagásicos.** BURGOS JM VIGLIANO, C ALTHEH J, FREILIJ H, LAGUENS R, LEVIN MJ, SCHIJMAN AG.

INGEBI-CONICET. Vuelta de Obligado 2490 (1428) Bs As.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica altamente sensible y específica para el diagnóstico y seguimiento de pacientes chagásicos en tratamiento tripanocida. En este sentido, la PCR competitiva (PCRQ) puede ser utilizada para cuantificar la DNAemia. Esta técnica consiste en introducir en la mezcla de reacción una secuencia de DNA de título conocido que sea reconocida por los mismos primers que la secuencia blanco pero que pueda diferenciarse por PM mediante electroforesis en geles, funcionando como standard interno (SI) en una reacción de competencia. Una de las secuencias blanco más utilizadas para diagnóstico es un fragmento de 330 pb del minicirculo de kinetoplasto (KDNA) amplificado con primers 121 y 122. Para montar un sistema de PCR competitivo el primer paso es la construcción de un SI, para lograrlo se partió de un amplicón obtenido de sangre de un paciente chagásico, que fue clonado en pGEMT y secuenciado para diseñar un par de primers internos QI y QD con los que se realizó la técnica de "splicing by overlap extension" (SOEing). Se amplificaron por separado dos hemiproducidos de PCR (121-QD y 122-QI) a partir del clon original, que fueron purificados e incubados en una única reacción de PCR con primers 121-122 para obtener el producto final de 275 pb. Este amplicón fue clonado en pGEMT y cuantificado para su utilización como competidor en ensayos de PCRQ. Se optimizó la reacción de PCRQ utilizando como templados DNA total y K-DNA de *T. cruzi* purificados y DNA de plásmido recombinante para producto de 330 pb de KDNA de paciente chagásico. Para contar con muestra clínicas para ensayos de PCRQ se realizaron ampliaciones cualitativas a partir de muestras de pacientes chagásicos en tratamiento con benznidazol y de un paciente que fue sometido a trasplante cardíaco y sufrió una reactivación chagásica post trasplante. Las muestras positivas por PCR cualitativa están siendo cuantificadas por ensayos de PCR competitiva.

**BQBM3. Estudio de la ornitina decarboxilasa (ODC) en el tripanosomátido *Phytomonas T274*.** CEJAS S, CARRILLO C, GONZÁLEZ NS, ALGRANATI ID.

IIB-FCEyN - Fundación Campomar, UBA.

Estudios de la actividad de la ornitina decarboxilasa (ODC), enzima fundamental en la biosíntesis de las poliaminas, en diversos protozoarios, han indicado que parásitos monogenéticos (*C. fasciculata*, *Herpetomonas sp.*, *Leptomonas sp.*) tienen una enzima metabólicamente inestable (vida media menor a 30 min.). En cambio, parásitos digenéticos (*T. brucei*, *L. mexicana*) poseen una ODC marcadamente estable (vida media mayor a 8hs).

El parásito *Phytomonas T274*, que posee un insecto vector y un hospedador vegetal, es el primer protozoario digenético cuya ODC es inestable. En estudios anteriores caracterizamos cinéticamente a la ODC de *Phytomonas T274*, siendo la Km del sustrato (ornitina) = 0,25mM, la Km del co-factor (PLP) = 1microM y la vida media = 30min. En este trabajo demostramos que el inhibidor específico de la ODC, difluor metil ornitina (DFMO), no inhibe el crecimiento del parásito, aún a altas concentraciones (50mM) en el medio de cultivo, pese a que esta droga inhibe marcadamente la actividad enzimática en extractos de *Phytomonas*. Por otro lado, demostramos que en este parásito no se encuentra actividad de arginina decarboxilasa (ADC), de modo que toda la putrescina obtenida es producto de la reacción catalizada por la ODC. Además se determinó la estequiometría de la reacción. Asimismo detectamos la presencia del gen de ODC por Southern blot y PCR y se buscó la expresión de dicho gen por Northern blot, utilizando una sonda heteróloga sintetizada a partir de regiones del gen de la ODC de *C. fasciculata*.

**BQBM4. Estudio de proteínas de unión a ácidos nucleicos en el parásito *Trypanosoma cruzi*: identificación y caracterización de una proteína con múltiples dominios dedo de zinc.** PORTAL D, ESPINOSA J, D'ANGELO M, TORRES HN y FLAWIA MM.

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI-UBA-CONICET), Vuelta de Obligado 2490 2ºP 1428 Buenos Aires.

La regulación de la expresión génica en tripanosomátidos, es un proceso muy poco comprendido. Hasta el momento, no se posee información bioquímica ni genética sobre la existencia de factores de transcripción o proteínas similares. Sin embargo, existe un alto grado de conservación en las rutas de transducción de señales entre estos parásitos y organismos superiores. En un intento por identificar miembros de la familia de factores de transcripción del tipo bZIP en *Trypanosoma cruzi*, se realizaron experimentos de retardo en gel utilizando oligonucleótidos portadores de la secuencia AP-1. Utilizando una sonda doble cadena, se detectaron tres complejos de retardo, llamados A, B y C. Al utilizar una sonda simple cadena, solo se obtuvieron los complejos A y C. La proporción relativa del complejo B (doble cadena), incrementa en función del largo de la sonda y la fuerza iónica. Ensayos de entrecruzamiento con luz UVC, generaron bandas de 100, 60 y 39 kDa para el complejo A, de 46 y 43 kDa para el complejo B y solo una banda de 43 kDa para el complejo C. La purificación parcial de las proteínas confirmó la naturaleza común de los complejos B y C. Algunas similitudes entre los factores de *T. cruzi* y la familia proteínas con dedos de zinc del tipo CCHC propiciaron la búsqueda de estas últimas, en el parásito. Mediante la técnica de PCR, se clonó un nuevo gen cuyo producto pertenece a la familia de proteínas con dedos de zinc del tipo CCHC. La nueva proteína posee siete dedos de zinc y se nombró PZFP-1. Experimentos de Southern blot indicaron que existen copias adyacentes del gen. Ensayos de Northern blot, mostraron una fuerte expresión en la forma epimastigote del parásito. Asimismo, la nueva proteína forma dímeros y puede unirse a los sitios reportados de unión de CCHC. El fraccionamiento de extractos proteicos mostró que las actividades de unión a AP-1 y CCHC copurifican y que PZFP-1 estaría involucrada en la formación del complejo B.

**BQBM5. Empleo de la metodología de inmunización con ADN en el estudio de la inmunopatogénesis de la cardiopatía chagásica crónica.** GHIO S, LÓPEZ BERGAMI P, QUINTANA F, LEVIN MJ, LEVITUS G.

INGEBI-CONICET, FCEyN-UBA. *Vuelta de Obligado 2490, Capital*

La hipótesis de nuestro trabajo postula que algunos de los signos y síntomas de la cardiopatía chagásica crónica se deberían a la interacción de auto-anticuerpos inducidos por antígenos parasitarios, como las proteínas ribosomales P, con receptores cardíacos. Una manera de verificar esta hipótesis es por inmunización de ratones con las proteínas P de *T. cruzi* y un posterior análisis de la respuesta inmune y de las alteraciones producidas. La inmunización con ADN permite la expresión constante de los epitopes de interés en el tejido muscular del hospedador. Considerando que las proteínas ribosomales son citoplasmáticas, que parte del ciclo de vida del parásito ocurre intracelularmente y que en la fase crónica de la enfermedad la parasitemia es muy baja, creemos que esta estrategia refleja mejor la infección por *T. cruzi*. En este trabajo se clonó el gen TcP2b en el vector de expresión pcDNA3. Con este plásmido se inmunizaron ratones por vía intramuscular. En una primera experiencia no se obtuvieron niveles significativos de anticuerpos anti-TcP2b, sin embargo, el desafío con la proteína recombinante demostró que la inmunización con ADN había inducido una respuesta primaria específica. En una segunda experiencia se obtuvieron altos niveles de anticuerpos específicos (la diferencia entre ambas experiencias consistió en la edad inicial de los ratones: en la primera tenían 6 semanas y en la segunda, 8 semanas). El análisis de esta respuesta reveló que estos anticuerpos eran mayoritariamente IgG2a y que no estaban particularmente dirigidos contra el extremo C-terminal de la proteína, como ocurre por inmunización i.p. de la proteína recombinante. Por otra parte, los ratones inmunizados con ADN no presentaron alteraciones electrocardiográficas significativas comparables a las obtenidas por inyección de la proteína recombinante. Los resultados sugieren que la respuesta humoral inducida por ambas metodologías difieren entre sí y que alguna de estas diferencias podría estar relacionada con la falta de alteraciones en el ECG.

**BQBM6. Efecto de la Fosfolipasa C en la interacción trofoblasto placentario humano-T. cruzi.** SARTORI MJ, FRANK FM\*, LIN S, MEZZANO L, MALCHIODI EL\*, FABRO SP de.

*Ila Cát. de Histología, Embriología y Genética. Fac. Cs Médicas. UNC. \*IDEHU (CONICET-UBA), Cát. Inmunología, FFyB, UBA.*

La Fosfatasa Alcalina Placentaria (FAP) es una enzima receptora de IgG en el trofoblasto placentario (McNabb 1976). FAP está unida a membrana mediante una molécula de glycosyl-phosphatidylinositol, y puede ser solubilizada mediante tratamiento con Fosfolipasa C (PL-C) (Van Hoof 1994). Se conoce que ciertas enzimas de membrana celular participarían en la invasión de algunos microorganismos (Walker 1983). A pesar que la invasión de *T. cruzi* a células fagocíticas profesionales y no profesionales ha sido estudiada (Meirelles 1987, Prioli 1991) no se ha establecido si FAP participa en este proceso. En este trabajo comparamos la invasión *in vitro* de *T. cruzi* a vellosidades de cotiledones de placenta humana normal (control) y vellosidades tratadas con PL-C durante 4 hs. Las mismas fueron co-cultivadas con  $1 \times 10^5$  trypomastigotes (cepa Tulahuen) en medio M-199 por otras 4 hs. Finalmente, los tejidos placentarios se lavaron con PBS y fueron procesa-

dos para PCR (Moser 1989), zymogramas y estudios histoquímicos. Los zymogramas permitieron diferenciar placentas homocigotas para FAP, las cuales presentan una banda de 85 KDa, de heterocigotas que presentan dos bandas 85 y 100 KDa. Esta segunda banda desaparece luego del tratamiento con PL-C, mientras que la de 85 KDa permanece visible en ambos fenotipos placentarios. La interiorización de los parásitos se observó con Hematoxilina/eosina y se confirmó por PCR. Tanto en las placentas control como en las homocigotas tratadas con PL-C pudieron observarse amastigotes, mientras que no se observaron en las placentas heterocigotas pretratadas, a pesar de una cuidadosa búsqueda. La ausencia de parásitos en estas placentas se confirmó por PCR, ya que la banda esperada de 188 pb se observó en las placentas homocigotas tratadas y en las placentas control, pero no en las heterocigotas tratadas. Concluimos que el pretratamiento con PL-C antes de la infección con *T. cruzi* dificulta la invasión parasitaria al trofoblasto placentario cuando el fenotipo de FAP es heterocigota F

**BQBM7. Caracterización de un antígeno de Trypanosoma cruzi rico en ácido glutámico.** GHIO S, LEVITUS G, JURI AYUB M, GONZÁLEZ A, LEVIN MJ.

INGEBI-CONICET, FCEyN-UBA. *Vuelta de Obligado 2490, Buenos Aires. \*Instituto de Parasitología y Biomedicina "López Neyra", Granada, España.*

En el contexto del Proyecto Genoma *Trypanosoma cruzi* del CYTED se secuenció un marcador EST (expression sequence tag) de 718 pb, con el cual se realizaron sondas para rastrear una biblioteca genómica de cósmidos del Proyecto Genoma. El análisis por secuenciación de los clones obtenidos permitió identificar al gen correspondiente a este EST. El gen posee un marco de lectura abierto que codifica para una proteína de 1200 aa rica en residuos de ácido glutámico y aspártico que denominamos GARP (por glutamic acid rich protein). Esta proteína no presenta homología con las almacenadas hasta el momento en los bancos de datos. Completada su caracterización genética, y debido a sus extensas regiones de aminoácidos ácidos, propusimos a GARP como una posible proteína antigénica en la infección chagásica. Para demostrarlo subclonamos el gen en el vector de expresión pMAL-c2. Con la proteína de fusión MBP-GARP purificada se realizaron ensayos de Western blot utilizando sueros de pacientes chagásicos. Como MBP-GARP fue reconocida por algunos sueros, se determinó por ELISA la reactividad de GARP para un número mayor de sueros. Se ensayaron 60 sueros de pacientes chagásicos, de los cuales un 20% reconoció a GARP. Con esta proteína de fusión también se inmunizaron ratones para obtener anticuerpos policlonales y así poder identificar la proteína nativa del parásito. Los antisueros obtenidos presentaron altos niveles de anticuerpos contra GARP y reconocieron por Western blot algunas bandas en un lisado de epimastigotes de *T. cruzi*, las cuales están siendo caracterizadas.

**BQBM8. Vectores de fragmentación cromosómica en Trypanosoma cruzi.** LORENZI H, MEDRANO C, VAZQUEZ M, LEVIN MJ.

INGEBI-CONICET, FCEyN-UBA. *Vuelta de Obligado 2490 Piso 2. CP 1428 Capital Federal.*

SIRE es una secuencia repetida del genoma nuclear de *Trypanosoma cruzi*. La misma tiene una longitud de 400 pb y se encuentra presente en un número de 2000 a 4000 copias por genoma haploide. Debido a que experiencias de Southern blot de ADN genómico indican que la misma se encuentra

presente en todos los cromosomas del parásito, sugirió su posible utilización en el desarrollo de vectores de fragmentación de *T. cruzi* que no sólo permitan estudiar la distribución de SIRE sino también realizar mapeos de diferentes genes de interés. Los primeros vectores de fragmentación construidos contenían en el extremo 5' un marcador genómico de 400 pb (SIRE) o 1000 pb (locus H6.4 del gen TcP2b), el gen de selección que confiere resistencia a Neomicina y una región telomérica de *Tetrahymena* de 200 pb o 700 pb. Como resultados de estas primeras transfecciones, el vector no recombinó con el locus genómico esperado sino que se recircularizó formando episomas de alto peso molecular (mayor a 40kpb) constituidos por varias unidades del vector dispuestas en forma de tandem. Para determinar si este fenómeno se debía a que la secuencia telomérica de *Tetrahymena* no era funcional en este parásito, se construyó un nuevo vector que contenía en su extremo 5' una secuencia de 1000 pb correspondiente al locus H6.4 del gen TcP2b y en su extremo 3' una secuencia de 900 pb correspondiente a la región telomérica y subtelomérica de *T. cruzi*. El análisis de los parásitos transfectados determinó que el vector recombinó en el locus H6.4 aunque no se observó una diferencia de tamaño apreciable en el cromosoma correspondiente comparado con el clon salvaje. Esto pudo deberse a que el vector se insertó en el locus ribosomal en vez de fragmentarlo o a que la resolución de la electroforesis en campos pulsados no permitía apreciar la diferencia de tamaño. Southern blots hibridados con una sonda específica del locus H6.4 mostraron una nueva banda de aproximadamente 5 kpb lo que es compatible con ambas hipótesis.

**BQBM9. Clonado de tres ciclinas asociadas a la quinasa de proteínas CRK1 de *Trypanosoma cruzi*.** SANTORI MI, GÓMEZ EB, SWINDLE J.\* Y TELLEZ-IÑÓN MT.

\*Seattle Biomedical Research Institute, Seattle, WA, USA.  
INGEBI-CONICET y FCEYN, UBA

En células de eucariotes superiores la transición G1/S y G2/M está controlada por quinasas dependientes de ciclinas CDKs. En nuestro laboratorio se han clonado y caracterizado parcialmente dos quinasas denominadas TzCRK1 y TzCRK3, del tipo CDKs en *T. cruzi*. TzCRK1, codifica para una proteína de 33 kDa con > 78% de identidad con *T. brucei* CRK1, *Leishmania mexicana* CRK1 y *T. congolense* CRK1. El sistema de doble híbrido se empleó para identificar proteínas que se asocian a esta quinasa. El gen *tzcrk1* se subclonó en el vector pBTM116 fusionado con el dominio de unión a DNA del gen *lex A*. Esta construcción se usó para rastrear una biblioteca de cDNA de epimastigotes realizada en el vector de expresión de levaduras pVP16, con el dominio de activación del gen VP16. Se identificaron cerca de 20 clones distintos his+/lacZ+, que se secuenciaron y analizaron. Tres de ellos presentaron identidad con la proteína PREG de *Neurospora crassa* y PHO80 *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), que pertenecen a la familia de ciclinas. En *T. cruzi* se denominaron *tccyc2*, *tccyc4* y *tccyc5*. La PHO85, CDK de Sc, se une a diferentes ciclinas que están involucradas en la regulación del pasaje de G1 y de M/G1. Estos complejos participan en Sc en la fosforilación de factores de transcripción que controlan la expresión de enzimas del metabolismo del fosfato. Estos resultados sugieren que TzCRK1 puede estar relacionada con el ciclo celular y/o otros procesos como el metabolismo del fosfato. Financiado por WHO, UBA, FONCYT y CONICET.

**BQBM10. Purificación y caracterización parcial de la poli(ADP-ribosa)polimerasa (PARP) de *Crithidia fasciculata*.** FERNANDEZ VILLAMIL SH, MOLINA PORTELA MP, PODESTÁ D, CAPELLUTO DGS Y STOPPANI AOM.

Centro de Investigaciones Bioenergéticas, Facultad de Medicina, UBA.

La PARP es una enzima nuclear que cataliza la transferencia de unidades de ADP-ribosa desde el NAD<sup>+</sup> a una proteína sustrato (DNA-ligasas, DNA-polimerasas, topoisomerasas y otras proteínas, inclusive ella misma), en respuesta a daños en el DNA. Esta enzima influye en procesos relacionados con el DNA como la replicación, diferenciación y reparación (1). También esta implicada en la carcinogénesis, la respuesta celular inducida por oxidantes y en la apoptosis. Con el objetivo de estudiar la PARP como eventual blanco de agentes quimioterápicos en tripanosomátidos, se procedió a su purificación y caracterización. La actividad enzimática se midió según Shah y col. utilizando [<sup>3</sup>H]NAD (2). La enzima fue purificada por precipitación con sulfato de amonio (30-70%) y posteriores cromatografías en DNA-celulosa, Blue-Sepharosa e Hidroxilapatita, resultando purificada 11000 veces, con un rendimiento del 17%. Por SDS-PAGE, la enzima se encontró en un aparente estado de homogeneidad, obteniéndose una única banda de 60 kDa. La actividad PARP fue totalmente dependiente de la presencia de DNA activado (digerido por DNAsas). En ausencia de histonas la actividad fue 40-50% respecto de la del control (conteniendo histonas 70 mg/ml), demostrando su capacidad autocatalítica. El agregado de histonas estimuló su actividad hasta que la relación DNA activado: histonas fue 1:1, ya que concentraciones mayores de histonas resultaron inhibitorias. La enzima fue estable en alta concentración proteica y alta fuerza iónica (0.6 M ClNa) por lo menos un mes a -50°C. El pH óptimo de reacción fue 7.5. El Km para el NAD<sup>+</sup> fue de 0.4 mM. La enzima fue inhibida 68% por 10 mM de 3-aminobenzamida, 64% por 1 mM de Timidina, 86% por 1 mM de teofilina y 81% por 1mM de nicotinamida, conocidos inhibidores de PARPs de otros orígenes. Referencias Shall S. (1995) *Biochimie* 77,313-318.

Shah G M y col. (1995) *Anal. Biochem.* 227, 1-13.

**BQBM11. Inhibición de la Poli(ADP-ribosa)polimerasa (PARP) de *Crithidia fasciculata* por b-lapachona.** FERNANDEZ VILLAMIL SH, PODESTÁ D Y STOPPANI AOM.

Centro de Investigaciones Bioenergéticas, Fac.Medicina, UBA.

La PARP es una enzima nuclear que interviene en procesos relacionados con el DNA, como la replicación, reparación y diferenciación. La b-lapachona (3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-nafto[1,2b]piran-5,6-diona) es un potencial agente quimioterápico ya que inhibe la reparación de daños en el DNA, la transcriptasa reversa de oncornavirus e induce apoptosis en células tumorales (1,2). Estudios realizados en nuestro laboratorio con tripanosomátidos, demostraron que la b-lapachona inhibe el crecimiento celular, induce rupturas en el DNA y genera un ciclo redox produciendo especies reactivas de oxígeno (ERO)(3). El objetivo del presente estudio ha sido caracterizar la PARP como posible blanco en el mecanismo de la acción citotóxica de la b-lapachona en tripanosomátidos. La enzima fue purificada por sucesivas cromatografías en DNA-celulosa, Blue-Sepharosa e Hidroxilapatita. Nuestros resultados

muestran que, en *Crithidia fasciculata*, la b-lapachona (20 mM) inhibe 60% la actividad PARP; dicha inhibición fue dependiente de la concentración y del tiempo de incubación. Resultados similares se obtuvieron con otra o-naftoquinona análoga, CG 8-935; pero la a-lapachona (p-naftoquinona) fue mucho menos activa. La b-lapachona genera ERO como  $O_2^-$  y  $H_2O_2$ , que en presencia de Fe (II), producen radical anión  $OH^-$  (Sistema Fenton). Ensayos realizados en esas condiciones mostraron inhibición del 95% de la PARP. Tanto los efectos de la b-lapachona, como del Sistema Fenton, fueron menores en presencia de DTT (1.5 mM), Cys o GSH (0.5mM). Estas observaciones sugieren que la b-lapachona podría ser especialmente tóxica en células en activa proliferación, donde la PARP interviene activamente. Referencias: Wuerzberger SM, Pink JJ, Planchon SM, Byers KL, Bommann WG y Boothman DA. (1998) Cancer Res. 58, 1876-1885. Shiah S, Chuang S, Chau Y, Shen S, Kuo, M. (1999) Cancer Res. 59, 391-398.

Molina Portela MP, Fernandez Villamil SH, Perissinotti LJ, Stoppani AOM. (1996) Biochem Pharmacol, 52, 1875-1882.

**BQBM12. Clonado e identificación de una molécula correspondiente a la fracción glicoproteica de antígenos de membrana de *Trypanosoma cruzi*.** SILBER AM, RODVELDT C, MARCIPAR IS Y MARCIPAR AJ

INTEBIO, F de Bioquímica y Cs. Biológicas, UNL, CC 530, Ciudad Universitaria Pje. El Pozo, 3000 Santa Fe, Argentina.

La fracción glicoproteica de membranas de epimastigotes de *T. cruzi* ha demostrado ser altamente antigénica y contener componentes relacionados con eventos tales como las interacciones del parásito con la respuesta inmune del huésped y la invasión celular. Sin embargo, aún no ha sido realizado un análisis exhaustivo de los componentes de estas fracciones. En este trabajo se llevó a cabo un rastreo inmunológico con sueros de conejo reactivos contra esta fracción glicoproteica de membranas sobre una biblioteca de expresión construida en fago lambda a partir de ADN copia de tripomastigotes de *T. cruzi*. Se identificó un clon positivo que codifica para una proteína que presenta dos bandas de 29 y 32 kD en epimastigotes. La localización subcelular corresponde mayormente a la membrana flagelar del parásito en el estadio epimastigote. El fragmento clonado, de 850 pb, codifica para un mensajero de longitud completa. Este inserto de AND obtenido fue secuenciado parcialmente desde ambos extremos, mostrando alta homología con secuencias reportadas para 6 proteínas flagelares ligantes de calcio de *T. cruzi*

## Redes: R

**R1. Prevalencia de infección chagásica en menores de 5 años en zona endémica -Provincia de Santa Fe – 1998.** ACHKAR G., NEPOTE M, DE SANTIS P, FABRONI R.

Min. de Salud, Santa Fe. Blas Parera 8260 3000 Santa Fe

Se efectuó el inmunodiagnóstico para la determinación de infección chagásica en menores de 5 años en departamentos ubicados en zona endémica, para conocer la prevalencia y realizar los tratamientos con antiparasitarios específicos.

Este trabajo muestra los resultados obtenidos en la región norte de los departamentos de 9 de Julio y Vera, ubicados al noroeste y norte de la Prov. de Santa Fe. Esta región fue considerada históricamente como de endemidad crítica para la infección chagásica. Hasta 1997 las normas provinciales indi-

caban que debían ser tratados sólo los casos agudos y los infectados menores de 5 años. Actualmente la edad del tratamiento se extendió a 15 años. La serología en menores de 5 años se considera un buen indicador de situación. En 9 de Julio se trabajó bajo el primer concepto, circunscribiéndose la encuesta serológica a este grupo etario. Entre 1997 y 1998 el Prog. Prov. de Chagas y el Serv. Nac. de Chagas efectuaron rociados de ataque, comenzándose a aplicar la estrategia de "participación comunitaria". Posteriormente se realizaron las extracciones por agentes sanitarios de la zona, utilizando un equipo para recolección y conservación de anticuerpos en muestras de sangre entera "Serokit". Las técnicas serológicas realizadas fueron HAI y ELISA. En el Dto. 9 de Julio se obtuvo una prevalencia total del 2,8% (n=632). El mayor porcentaje de positivos fue detectado en la localidad de Gato Colorado, ubicada en el límite con el Chaco, con 10 niños infectados 5,46% (n=183), discriminando entre zona rural y urbana, la primera presenta 11,42% de prevalencia porcentual (n=70) mientras que en la zona urbana un 1,76% (n=113). No todos los niños eran residentes de esta localidad, sino que provenían del Chaco. En las demás localidades se obtuvo entre un 1 y un 3,1% de positivos. El Dto. Vera presentó una prevalencia de 2,1% (n=241). Se concluye, por de los resultados obtenidos, que las acciones de control deben continuarse e intensificarse en esta región.

**R2. Control de Calidad Externo en Infección chagásica de la Provincia de Santa Fe-1997-ACHKAR G, MAIDANA C**

Programa Red de Laboratorios, Blas Parera 8260, 3000 Santa Fe

Los laboratorios ubicados en la zona endémica de la provincia y los que realizan control de sangre a transfundir deben realizar las técnicas de hemoaglutinación indirecta y de enzimoimmunoensayo, denominándose Ia. Los de poca demanda ubicados en zona no endémica pueden realizar dos técnicas de descarte con posterior derivación de las muestras positivas o discordantes a los laboratorios de mayor complejidad, denominándose Ib. Existen tres laboratorios que realizan inmunofluorescencia indirecta, complejidad I. En 1995 se comenzó a participar en las encuestas de control de calidad externo organizadas por el actual Instituto Nacional de Parasitología (ex INDIECH). En 1997 participaron 41 laboratorios Ia. A los fines de mejorar el monitoreo de los laboratorios que presentaran problemas se diseñó un programa consistente en tres etapas: 1°: Envío a los laboratorios de 3 muestras de control liofilizadas provenientes del Instituto Nacional de Parasitología (reactiva, débil reactiva y negativa) 2°: Envío de muestras de suero de la rutina de laboratorios con problemas al Laboratorio Central de Referencia, 3°: supervisión directa de los laboratorios que siguieran presentando inconvenientes en el desarrollo en la etapa anterior. En la primera etapa se obtuvo una buena correlación en los 41 servicios intervinientes (Kappa=0,73) en la reacción de H.A.I. y una muy buena (Kappa=0,88) para la reacción de ELISA. La reacción de H.A.I. presentó 2 falsos positivos y 14 falsos negativos en el suero débil reactivo. La reacción de ELISA arrojó 7 falsos negativos con esa muestra. Ocho laboratorios que contestaron la encuesta informaron no reactivas dos técnicas realizadas en el suero débil reactivo. En la 2° etapa participaron estos ocho laboratorios. Con ambas técnicas de obtuvo una correlación excelente. Se detectó que el 50% de estos laboratorios realizaba una sola técnica en su rutina. Conclusión: El programa diseñado permite realizar un monitoreo del trabajo de los laboratorios de la red y permite detectar errores técnicos y normativos.

**R3. Red de diagnóstico de patologías zoonóticas.** DALLA FONTANA M, FERRARA ME, FUSCO S, ALBY JC

*Laboratorio Central, Blas Parera 8260, 3000 Santa Fe*

El Lab. de Zoonosis tiene como objetivo el apoyo a la vig. epidem. de patologías zoonóticas de alta prevalencia, ocurrencia esporádica, controlada en etapa de vigilancia y enfermedades emergentes mediante un correcto y oportuno diagnóstico de laboratorio. Resultados: La Red está conformada por 90 laboratorios distribuidos en toda la provincia, diferenciados en su nivel de complejidad según la patología a diagnosticar. Para Rabia, Hidatidosis, Toxocarosis, Psitacosis, Triquinosis, Hantavirus las muestras se derivan al Laboratorio Central, para Brucelosis, Leptospirosis, Toxoplasmosis los laboratorios siguen una secuencia diagnóstica desde pruebas de descartar hasta confirmatorias. Profesionales bioquímicos del 100% de los laboratorios son capacitados en forma continua. El Lab. Central produce antígenos de Leptospirosis, Hidatidosis, Triquinosis Toxoplasmosis, Rvos. para Rabia y para Brucelosis provee Antig. de referencia de la ANLIS. El control de calidad para estas patologías se realiza a través de supervisiones semestrales donde se evalúa la metodología de trabajo y disponibilidad de insumos; por el envío de sueros para control interno, en el caso de Brucelosis, los laboratorios participan de un control de calidad externo a cargo del Lab. Central. Se efectúan trabajos en terreno en hidatidosis, vig. entomológica de *A aegypti*, hantavirus, brotes de leptospirosis, triquinosis en coordinación con inst. nacionales, provinciales y municipales. De acuerdo a planillas de detección serológica de enf. transmisibles, la prevalencia de las patologías que ahí se informan, en 1998 2,89% para Brucelosis y 40 a 50% para Toxoplasmosis. Se centraliza la información de casos o brotes de leptospirosis (101 casos en 1998 y 9 casos en 1999), Triquinosis (12 brotes con 68 casos confirmados en 1998 y 1 brote con 20 casos confirmados en 1999) Psitacosis, (11 casos en 1998 y 11 en 1999), 2 casos de Rabia en murciélagos en 1998.

**R4. Red de laboratorios en apoyo a la vigilancia epidemiológica.** FONTANA DH, ALBY JC.

*Laboratorio Central, Blas Parera 8260, 3000 Santa Fe*

La provincia de Santa Fe cuenta con una importante estructura de laboratorios de diagnóstico bioquímico. Cada uno de ellos, desde ha experimentado cierto grado de desarrollo, condicionado por los siguientes factores: a) las características socioeconómicas de la localidad y la región a la que pertenece; b) las vías de comunicación; c) las características del sistema de salud de la localidad y la región; d) el esfuerzo individual de sus profesionales, e) el apoyo que reciben desde el nivel local (comuna, SAMCo, municipalidad) o provincial (Ministerio de Salud.) La organización en una estructura de red, resulta fundamental para brindar respuesta a los problemas de salud de la población, teniendo en cuenta que del total de las patologías sujetas a vigilancia epidemiológica, unas 50 requieren confirmación de laboratorio. Los objetivos de la Red de Laboratorios son: 1) garantizar el acceso a un correcto diagnóstico de laboratorio; 2) mejorar la calidad de atención de los problemas de salud de la población y prevención de los mismos a través de un adecuado diagnóstico de laboratorio; 3) brindar apoyo al sistema de vigilancia epidemiológica. Resultados: a través de la red se ha logrado: 1) diagnosticar el 100% de los casos de cólera ocurridos en la provincia de Santa Fe, desde 1993 hasta el presente. 2) reducir el porcentaje de inespecificidad de los agentes etiológicos de meningitis, del 74% al 4,1%; 3) detectar casos de patologías de las cuáles había un subregistro, como, leptospirosis; 4) diagnosticar los 210 ca-

sos de triquinosis ocurridos en la provincia, en 1997-1998 5) diagnosticar los casos de sarampión ocurridos en el país durante el brote de 1998; 6) capacitar al 100% de los laboratorios de salud pública en el diagnóstico de las patologías de la red; 7) facilitar los insumos necesarios para el diagnóstico de laboratorio; 8) trabajar al unísono entre los 90 laboratorios de la provincia, con normas de trabajo unificadas y validadas por organismos nacionales; 9) trabajar con reactivos de alta calidad elaborados por institutos nacionales para la resolución de ciertas patologías, a los cuáles los laboratorios no podrían acceder por su esfuerzo individual. ej: brucelosis; 10) fortalecer el control de laboratorio de las embarazadas; 11) incluir a los laboratorios en un sistema de control de calidad, 12) aumentar el acceso a la atención bioquímica en la provincia, del 36% en 1995 al 84% en 1999, cifra significativa teniendo en cuenta que, de los 665 centros de salud pública con que cuenta la provincia, solamente 90 poseen laboratorio instalado en el servicio

**R5. Estudio Comparativo de Medios Líquidos y Sólidos en el Diagnóstico de Micobacterias - Comparación del medio 7H9 de Middlebrook y el sistema M-GIT con los medios de cultivos clásicos en condiciones de terreno.** GILLI MI, SEQUEIRA MD, LOPEZ ML, LATINI OA.

*Inst Nac. de Enfermedades Respiratorias "Dr. E. Coni" y Laboratorio Central M S y M A. Blas Parera 8260, 3000 Santa Fe. Pcia. Santa Fe.*

Introducción: La baciloscopia es la técnica de elección en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Los cultivos clásicos solucionan la mayoría de los problemas restantes. Pero los pacientes inmunocomprometidos necesitan mayor precocidad y sensibilidad en sus cultivos. Objetivos: Evaluar en condiciones de terreno la utilización del sistema Mycobacteria Growth Indicator Tube (M-GIT) y el medio 7H9 de Middlebrook, desde el punto de vista de la velocidad de detección de desarrollo, sensibilidad, contaminación, costos y posibilidad de implementación en la Red de Tuberculosis en laboratorios de mediana complejidad. Metodología: Se analizaron las siguientes muestras pulmonares y extrapulmonares de pacientes seleccionados con necesidad de diagnóstico rápido y sensible: A-En 215 muestras se compararon los cultivos en M-GIT con los de medios clásicos. B-En otras 364 muestras se compararon los cultivos en medio 7H9 con los de medios clásicos. Resultados: Grupo A: con M-GIT se observó mayor sensibilidad ( $p=0,346$ ), menor tiempo de detección ( $p<0,0001$ ) y mayor costo que con los medios sólidos. Grupo B: con 7H9 de Middlebrook se observó mayor sensibilidad ( $p=0,55$ ), menor tiempo de detección ( $p=0,1474$ ) y mayor carga de trabajo que con los medios sólidos. El porcentaje de muestras en las que se justificó este procedimiento, del total de muestras estudiadas en ese período de tiempo, en nuestro laboratorio, es sólo de un 5,9%. Conclusión: Para el uso racional de recursos, conviene agregar al cultivo convencional un tubo de M-GIT en pacientes inmunocomprometidos por su rapidez y un tubo de 7H9 en cultivos de muestras extrapulmonares por su sensibilidad.

**R6. Evaluación administrativa de calidad y rendimiento del cultivo para diagnóstico de tuberculosis en la Red de Laboratorios de la Provincia de Santa Fe-Año 1998** ROSSI A, GILLI MI.

*Laboratorio Central M S y M A. Blas Parera 8260, 3000 Santa Fe. Pcia. Santa Fe.*

Introducción: El cultivo (C) en el diagnóstico de Tuberculosis (TB) es una técnica fundamental para los casos

paucibacilares. Según trabajos publicados a nivel nacional, aproximadamente el 30% de los casos pulmonares baciloscopía (B) negativos son resueltos por esta técnica. Para lograr esa cobertura se necesitan medios de cultivos de alta sensibilidad y calidad técnica, parámetros que deben evaluarse en forma sistemática a través de controles de calidad directos e indirectos. Objetivo: Evaluar indirectamente la calidad y el rendimiento del cultivo en TB en la Pcia. de Santa Fe, con el fin de: - asegurar un diagnóstico certero y - optimizar la utilización de los recursos disponibles. Metodología: de la planilla "Diagnóstico Bacteriológico de la TB" implementada por el Laboratorio Central, se han extraídos los datos de casos diagnosticados por B y/o C. Participaron en este análisis 8 laboratorios provinciales y uno nacional, teniendo en cuenta el N° de C(+)/B(-), C(+)/B no realizadas, se evaluó el rendimiento del cultivo. El parámetro B(+)/C(-) permitió analizar la sensibilidad del medio de cultivo y la calidad de la técnica empleada. Además como una medida de la recuperación de las micobacterias, teniendo en cuenta la concentración y el tiempo de contacto con el decontaminante se usó el N° de casos B(+)/C contaminados. Resultados: Se analizaron para el presente trabajo las cifras promedios provinciales: C(+)/B(-), C(+)/Bnr: 26,8%; B(+)/C(-): 6,9%; B(+)/Cc: 1,4%. Conclusiones: Se considera que el rendimiento del cultivo en la provincia es muy cercano al promedio nacional: 28,2%(1996), lo que indica buena selección de pacientes estudiados. El rendimiento promedio provincial en 1997 fue:30%. El análisis del N° B(+)/C(-) comparado con el promedio nacional:2,9%(1996), detecta fallas de registro de datos y de utilización de medios comerciales de sensibilidad no controlada. Con respecto a la recuperación de micobacterias se obtuvieron valores aceptables y esperados.

**R7. Etiología de las Diarreas: Hallazgos y algunas consideraciones.** MURACCIOLE DI, RODRÍGUEZ C, COLOMBO M y BASUALDO MA.

*Departamento Bioquímica, Ministerio de Desarrollo Humano. Hipólito Yrigoyen 235 Formosa.*

A propósito de conocer cuál es el patógeno prevalente en pacientes ambulatorios que consultaron por Diarrea en 10 Centros de Salud de la ciudad de Formosa, se sometieron a exámenes Parasitológicos, Bacteriológicos (Cultivos, pruebas bioquímicas y serotipificación) y Viroológicos (PAGE, PCR y/o ELISA monoclonal) 100 muestras de Materia Fecal colectadas entre abril de 1.998 y abril de 1.999. De las cuales 67 correspondían a pacientes menores de 5 años de edad y 33 a mayores, quienes habían presentado Diarrea Aguda (Evolución menor a 72 Hs, aspecto no forme y sin tratamiento antibiótico previo). Obteniéndose el siguiente listado, en orden de frecuencia, de los enteropatógenos identificados: Parásitos (15%), Salmonella (15%), Rotavirus (11%), EPEC (4%), Shighella (2%) con el (53%) restante corresponde a no enteropatógenos. Conclusión: Aún cuando el estudio corresponde a un año y el número de casos de Diarreas atendidos y notificados por estos Centros de Salud es de 1.400 para el mismo período, el tamaño de la muestra (n=100), es demasiado pequeña - significando el estudio del 7,14% (100/1.400) de las mismas - e inconveniente para interpretaciones válidas respecto a dar un perfil etiológico de las Diarreas en esta ciudad. Sería relevante implementar estrategias que mejoren la sistematización del muestreo a efectos de obtener no sólo el ranking de los enteropatógenos, sino además su relación con los intervalos de edades; gravedad del cuadro; niveles sociales, económicos y educativo del grupo; lugar y movimientos estacionales entre otras variables.