



La Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, tiene el honor de organizar el II Simposio Nacional sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC/VTEC) responsable del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH).

Este evento científico de gran relevancia se llevará a cabo los días 16 y 17 de Mayo del 2024 en la ciudad de Tandil en el Centro Cultural Universitario (Yrigoyen 662) Buenos Aires, Argentina.

Además se llevará a cabo el Taller LACER "Avances en la investigación en *E. coli* patógenas en latinoamérica previo al Simposio, el día 15 de Mayo de 2024 en el Aula 7, Pabellón 3 del Campus Universitario, Tandil.

**LOS ORGANIZADORES DEL SIMPOSIO VTEC ARGENTINA 2024
AGRADECEN EL APOYO DE LAS SIGUIENTES ENTIDADES**



Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina. ³ Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Los granulocitos neutrófilos son reclutados en el intestino tras la infección por el patógeno entérico *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC). Además de ejecutar acciones microbicidas, estas células podrían contribuir al extenso daño tisular que acompaña a las infecciones por STEC y que repercute en el desarrollo del síndrome urémico hemolítico (SUH). Previamente determinamos que los neutrófilos humanos secretan IL-1 β tras el desafío con STEC (O157:H7) por una vía que involucra a sus serinproteasas (SPN) y a la caspasa-1. En este trabajo evaluamos si un modelo murino podría ser apropiado para investigar tanto el papel de la IL-1 β del neutrófilo en el desarrollo del SUH, como la capacidad de los inhibidores de su secreción para detener la progresión hacia este síndrome. Para ello, aislamos células peritoneales de ratones BALB/c y C57BL6 (6-8 semanas) luego de 6 h de una inyección intraperitoneal de tioglicolato. A continuación desafiamos ex vivo a las muestras celulares que contenían ~54%-73% de granulocitos con STEC O157:H7 (multiplicidad de infección 0,5), en presencia o ausencia de un PAN-inhibidor de SPN (AEBSF 0,1 mM) o un inhibidor de caspasa-1/4 (VX-765 50 μ M). Al cabo de 3h, evaluamos la concentración de IL-1 β en los sobrenadantes. STEC indujo un aumento de IL-1 β por encima de los niveles basales, tanto en muestras de células de ratones BALB/c ($p < 0,0001$; $n=5$) como de C57BL6 ($p < 0,01$; $n=3$). Además, el AEBSF inhibió significativamente la secreción de IL-1 β inducida por STEC en células de ambas cepas (BALB/c AEBSF $n=5$ and; C57BL6 AEBSF, $n=6$ and $p < 0,001$). De igual modo, el VX-765 redujo la secreción (C57BL6, $n=5$; $p < 0,01$). Estos resultados indicaron que la secreción de IL-1 β por los neutrófilos de ratón puede ser modulada por los mismos inhibidores que en neutrófilos humanos, justificando el uso de un modelo murino para investigar el impacto de la IL-1 β neutrofílica en el SUH.

P25. BACTERIAS LÁCTICAS COMO CONTROL DE PATÓGENOS ASOCIADOS A ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS.

RUIZ MJ¹, GARCÍA MD¹, PADOLA NL¹, ETCHEVERRÍA AI¹

¹ Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, FCV-UNCPBA, CIC, CONICET, CIVETAN, Tandil, Buenos Aires, Argentina. jruiz@vet.unicen.edu.ar

Las exigencias de los consumidores por alimentos seguros y con beneficios adicionales, están imponiéndose en el mercado a nivel mundial. En nuestra región, si bien aún se conserva el consumo de alimentos tradicionales, esta demanda se está haciendo presente. El desarrollo de alimentos adicionados con bacterias probióticas representa una alternativa a esta demanda de vanguardia. En el Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, se viene trabajando desde hace diez años en la línea de investigación de bacterias lácticas (BL) potencialmente probióticas. Este estudio incluye el aislamiento y la caracterización bioquímica y molecular de cepas y metabolitos inhibitorios de diferentes orígenes (producción primaria, alimentos, industria, medio ambiente), ensayos de inhibición frente a bacterias patógenas implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) tales como *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Salmonella* Tiphymurium, reducción de biopelículas de patógenos sobre diferentes materiales, producción de bacteriocinas y otros metabolitos involucrados en la

inhibición, estudios preclínicos in vivo en ratones, viabilidad en alimentos lácteos y cárnicos y aguas residuales.

Como resultado de las investigaciones, se han encontrado BL con alto potencial inhibitorio. La cepa aislada, caracterizada y secuenciada con mejor comportamiento fue identificada como *Lactiplantibacillus plantarum* LP5. Numerosos ensayos inhibición in vitro demostraron su efecto antagónico frente a los patógenos mencionados, y específicamente sobre diferentes serotipos de STEC. Este comportamiento antagónico fue demostrado en muestras ambientales y en muestras cárnicas que contenían STEC O157:H7, reduciéndose hasta límites indetectables. También se demostró la capacidad de inhibición de biofilms formados por STEC mediante análisis de exclusión, desplazamiento y competencia. El efecto inhibitorio fue atribuido principalmente a la producción de plantaricinas, demostrado por ensayos de inhibición in vitro y confirmado por PCR y análisis completo de la secuencia. En ensayos in vivo se observó una modulación de la microbiota intestinal, previniendo infecciones por patógenos. En vista de los resultados satisfactorios alcanzados, se continúa trabajando con esta herramienta de impacto en la salud pública que permitirá el desarrollo de alimentos funcionales, biopreservar alimentos y biorremediar ambientes.

P26. FABC11:STX1/STX2-PEG, UN POTENCIAL CANDIDATO PARA NEUTRALIZAR LA TOXINA SHIGA: UN PASO ADELANTE

BOM AOP¹, SACERDOTI F², CHURA-CHAMBI RM¹, HENRIQUE IM¹, CARVALHO E¹, LUZ D¹, PIAZZA RMF¹

¹ Laboratório de Bacteriologia, Centro de Desenvolvimento de Anticorpos, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil. ² Laboratorio de Fisiopatogenia, Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay-CONICET), Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. ariela.bom.esib@esib.butantan.gov.br

El síndrome urémico hemolítico (SUH) desencadenado por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es una enfermedad que aún no dispone de terapias específicas. El tratamiento del SUH se limita a la hidratación y cuidados de sostén para los síntomas. Los anticuerpos emergen como una alternativa prometedora para la neutralización de antígenos debido a su alta especificidad y afinidad. Previamente, demostramos que el fragmento FabC11:Stx1/Stx2 protege 100% de la letalidad de Stx2 en un modelo animal de SUH de coinubación de la toxina y el FabC11:Stx1/Stx2. Sin embargo, no se observó esta protección cuando este fragmento fue inyectado en los animales posteriormente al desafío con la toxina. Esto nos hizo plantear la hipótesis de que la vida media de este Fab, al ser una molécula pequeña, es muy corta en circulación y que la conjugación de FabC11:Stx1/Stx2 con polietilenglicol (PEG) puede mejorar este parámetro. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue desarrollar FabC11:Stx1/Stx2 pegilado (FabC11:Stx1/Stx2-PEG) y evaluar su capacidad neutralizante de Stx2. La reacción de pegilación se llevó a cabo con la reconstitución de los enlaces disulfuro seguida de la purificación con cromatografía de intercambio iónico. Las estructuras de FabC11:Stx1/Stx2-PEG y FabC11:Stx1/Stx2 se compararon por dicróismo circular y la capacidad neutralizante de Stx2 in vitro por ensayo de viabilidad células Vero. Además, se evaluó la capacidad de protección de la sobrevida por parte de FabC11:Stx1/Stx2-PEG o FabC11:Stx1/Stx2 en ratones Balb-C pre inyectados con Stx2. Demostramos que la pegilación no altera la estructura secundaria del Fab, y que este mantiene su estructura espacial y su capacidad neutralizante. Además, que la administración