



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**



P5 OPTIMIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN Y PURIFICACIÓN DE Stx2B POR CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO

MUÑOZ Angie^{1*}, GUERRERO Claudia^{1*}, LOPEZ DIAZ Analia^{1,2}, GIRON REYES Daniel^{1,2}, MARQUES DA SILVA, Wanderson³, AMARAL María Marta^{1,2}, SACERDOTI Flavia^{1,2}

¹ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Médicas, Departamento de Ciencias Fisiológicas. Laboratorio de Fisiopatogenia. Buenos Aires, Argentina. ²

CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay). Buenos Aires, Argentina. ³ Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO)-CICVyA, INTA/CONICET. *estas autoras contribuyeron

de forma equitativa

La toxina Shiga tipo 2 (Stx2) es el factor de virulencia de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) responsable de desencadenar síndrome urémico hemolítico (SUH). Hasta el momento no existe un diagnóstico rápido ni tratamiento eficaz para el SUH. En este trabajo nos propusimos optimizar la expresión y purificación de la subunidad Stx2B recombinante con el propósito de utilizarla en técnicas inmunoenzimáticas o como inmunógeno para el desarrollo de sueros y la detección de Stx2. Para ello, se amplificó por PCR el gen *stx2b* a partir del genoma de la cepa *E. coli* O157:H7 (125/99). El producto de PCR fue clonado en el vector de expresión pet28a y su correcta inserción fue confirmada por secuenciación. La construcción pet28a-Stx2B fue transformada en la cepa de expresión *E. coli* BL21. Para la expresión, se cultivó BL21-pet28a-Stx2B en medio luria-bertani suplementado con kanamicina e inducido con IPTG 1mM por 3 o 24h. El cultivo bacteriano inducido por 3h obtuvo mejor rendimiento. Éste se centrifugó y el *pellet* se lisó y sonicó en buffer PBS. El sobrenadante se filtró por 0,22µm. Para la purificación se inyectaron 4 ml del sobrenadante en una columna Q HP (5 ml) pre equilibrada con Tris 20 mM pH 8 conectada a un AKTA Purifier. La elución se realizó con un gradiente lineal con Tris 20mM NaCl 1 M pH 8. Se cuantificaron las proteínas de cada fracción con el espectrofotómetro NanoDrop Lite y se chequeó la pureza e identidad de las fracciones por SDS-PAGE 15% y western blot. Se optimizó la inducción de la proteína y se obtuvo un rendimiento de 5,5 mg de Stx2B de un cultivo de 1L con una pureza estimada de 65%. Proponemos continuar con la optimización para que esta proteína pueda ser utilizada como reactivo para el diagnóstico y/o tratamiento del SUH.

P6 EFECTO DEL NaF SOBRE LA INFECCIÓN DEL FAGO Stx2 ArgO145

PASCAL SB¹, RODRÍGUEZ VA¹, LUCCHESI PMA¹, KRÜGER A¹.

¹ Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-CIC-UNCPBA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tandil. Buenos Aires. Argentina. spascal@vet.unicen.edu.ar

Las toxinas Shiga (Stxs) son consideradas el principal factor de virulencia de STEC y responsables de las características patológicas como también de las complicaciones severas de la infección. Están codificadas por bacteriófagos (fagos Stx), los cuales juegan un rol importante en la regulación de la producción de toxina, en la diseminación de los genes *stx* y en la emergencia de nuevas cepas STEC. Análisis bioinformáticos de genomas de fagos Stx2a mostraron que la región donde se encuentra localizado el gen *stx* es muy conservada

y codifica, adyacente a *stx2a*, una sialato O-acetil esterasa denominada NanS-p. Ensayos previos en nuestro laboratorio mostraron que la expresión de *nanS-p* se incrementa en respuesta a la inducción con mitomicina C, de manera similar a *stx2a*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del NaF, inhibidor de algunas esterasas, en la infección de los fagos Stx2a. Se seleccionó el fago ArgO145, el cual fue aislado a partir de una cepa STEC O145, secuenciado y caracterizado en estudios previos. Se generó un lisógeno utilizando la cepa *E. coli* WG5 como hospedadora y se evaluaron concentraciones de NaF que no tuvieran efecto negativo sobre el crecimiento de *E. coli* WG5. Se cultivó la cepa lisógena en caldo LB con mitomicina C. Los sobrenadantes filtrados (poro de 0,22 µm) del cultivo se incubaron 1:1 con NaF 1M (o agua como control negativo) y se titularon los fagos mediante el ensayo de doble capa de agar. Los resultados mostraron una marcada disminución en el título de fagos incubados con NaF. El efecto del NaF podría estar asociado a la inhibición de la actividad de NanS-p, por lo cual se requieren estudios específicos que determinen si NanS-p cumple un rol en la infección de fagos Stx2a.

P7 TIEMPO LETAL Y ADHERENCIA DE CEPAS BIG SIX Y O174 EN EL MODELO *Caenorhabditis elegans*

CUNDON C^{1,2*}, GHIGLIAZZA F¹, CURA BORDA R¹, BENTANCOR A^{1,2}.

**¹ Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Microbiología. Buenos Aires, Argentina ² Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Epidemiología Veterinaria. Buenos Aires, Argentina.
ccundon@fvvet.uba.ar**

La isla LAA es uno de los factores de adhesión de *Escherichia coli* Shigatoxigénico. *Caenorhabditis elegans* es un modelo versátil para el estudio de patógenos.

El objetivo del estudio fue comparar la expresión de virulencia de cepas STEC O174 LAA-positivas, LAA-incompletas o LAA-negativas, con cepas del *big six*, utilizando *C. elegans* como modelo experimental.

Se analizaron 14 cepas STEC O174, clasificadas mediante PCR como: LAA-positivas (4 módulos), LAA-incompletas (1 a 3 módulos) y LAA-negativas (sin módulos). Se determinó la presencia del gen *hes*. Se compararon con 6 cepas de referencia (SSI, Dinamarca), y una cepa control de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Se utilizó la cepa *E. coli* OP50 como control negativo.

Los serotipos O157:H7 y O103:H2 presentaron un valor TL50 de 3 días y de adhesión de 60 y 4,5 x10³ UFC/ml respectivamente; la cepa O26:H11 un TL50 de 4 días y adhesión de 50 x10³ UFC/ml, la O121:H19 TL de 6 días y adhesión de 6 x10³ UFC/ml, la O145:NM TL de 8 días y adhesión de 0,8 x10³ UFC/ml y la O111:H8 TL de 11 días y adhesión de 5,5 x10³ UFC/ml.

Respecto a STEC O174, doce cepas clasificadas como LAA-incompletas (6/12 codificaban *hes*) presentaron TL50 mayor o igual a 11 días con resultados de adhesión variables (5,4 a 95 x10³ UFC/ml). Una cepa LAA-positiva presentó TL50 de 12 días y adhesión de 33 x10³ UFC/ml; mientras que en la cepa LAA-negativa el TL fue mayor a 12 días con una adhesión de 82 x10³ UFC/ml.

Las diferencias en la adhesión podrían deberse a factores no vinculados con la isla LAA. El uso de *C. elegans* proporciona información de la interacción entre el patógeno y el hospedador. Estos hallazgos podrían contribuir al estudio de la diferencia en la expresión de virulencia de los aislamientos.