



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.

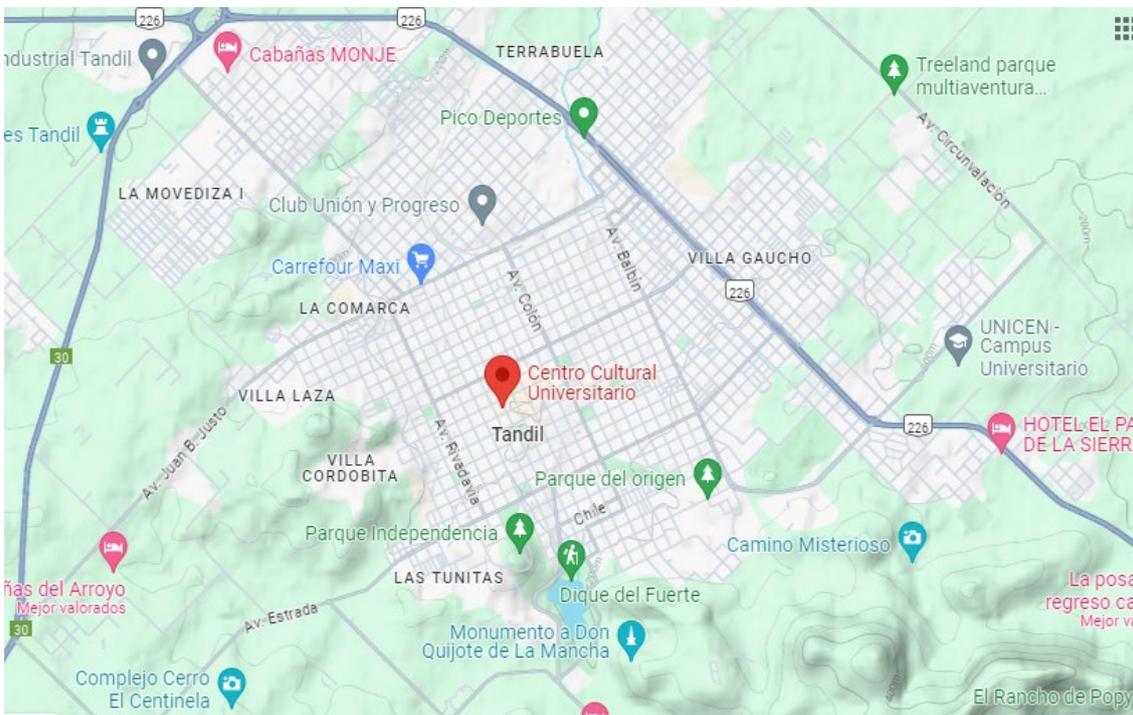
**LOS ORGANIZADORES DEL SIMPOSIO VTEC ARGENTINA 2024
AGRADECEN EL APOYO DE LAS SIGUIENTES ENTIDADES**



PLANO CAMPUS UNIVERSITARIO TANDIL



PLANO CENTRO CULTURAL UNIVERSITARIO



COMITÉ ORGANIZADOR (orden alfabético)

Presidenta:

Dra. Nora Lía Padola
FCV-CIVETAN-UNCPBA

Vicepresidenta:

Dra. Analia Etcheverría
FCV-CIVETAN-UNCPBA

Dra. María Marta Amaral
IFIBIO-Houssay, Fac. Medicina-UBA-
CONICET

Dra. Adriana Bentancor
Facultad Ciencias Veterinarias - IIEV - UBA

Dr. Angel Cataldi
IABIMO - INTA - CONICET

Dra. Isabel Chinen
Dpto Emergencias en Salud, Organización
Panamericana de la Salud (PHE/PAHO)

Lic. Marcelo Da Rocha
Asociación LuSUH

Dra. Lucía Galli
IGEVEV-CONICET/FCV - UNLP

Dra. Cristina Ibarra
IFIBIO-Houssay, Fac. Medicina-UBA-
CONICET

Dr. Mariano Larzábal
IABIMO - INTA - CONICET

Dra. Paula Lucchesi
FCV-CIVETAN-UNCPBA

Dra. Elizabeth Miliwebsky
INEI - ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán

Dra. María Victoria Ramos
IMEX-CONICET - Academia Nacional de
Medicina

COMITÉ ORGANIZADOR VTEC TANDIL (orden alfabético)

Dra. Jimena Cadona

Dra. Rocío Colello

Dra. Analía Etcheverría

Dra. Juliana González

Dra. Alejandra Krüger

Dra. Paula Lucchesi

Dra. Nora Lía Padola

Contador Gabriel Rodríguez

Dra. María Julia Ruiz

COMITÉ TÉCNICO Coordinadoras:

Lic. Ana Juárez

Dra. María Victoria Vélez

Lic. Melany Dualde

Dr. Daniel Fernández

Dra. Vanesa Fernández

Lic. Gabriela Gerez

Lic. Stefania Pascal

Lic. Victoria Rodríguez

COMITÉ CIENTÍFICO (orden alfabético)

Dra. Laura Alconcher
Hospital Penna, Bahía Blanca

Dra. María Marta Amaral
IFIBIO-Houssay, Fac. Medicina-UBA-
CONICET

Dra. Marcela Belardo
CONICET - IESCODE - UNPAZ

Dra. Adriana Bentancor
Fac. Ciencias Veterinarias - IIEV - UBA

Dra. Victoria Brusa
IGEVEV - UNLP

Dra. Isabel Chinen
Departamento de Emergencias en Salud,
Organización Panamericana de la Salud
(PHE/PAHO)

Dra. Rocío Colello
FCV-CIVETAN-UNCPBA

Dra. Cecilia Cundon
Fac. Ciencias Veterinarias - IIEV - UBA

Lic. Marcelo Da Rocha
Asociación LuSUH

Dr. Ramón Exeni
Hospital Ramón Exeni-San Justo

Dra. Silvina Fadda
CERELA CONICET

Dra. Lucía Galli
IGEVEV-CONICET/FCV-UNLP

Dra. Cristina Ibarra
IFIBIO-Houssay, Fac. Medicina-UBA-
CONICET

Dra. María Angela Jure
FBQyF - UNT Dra.

Alejandra Krüger
FCV-CIVETAN-UNCPBA

Dr. Mariano Larzábal
IABIMO - INTA - CONICET

Dra. Paula M. A. Lucchesi
FCV-CIVETAN-UNCPBA

Dr. Wanderson Marques Da Silva
IABIMO - INTA - CONICET

Dra. Elizabeth Miliwebsky
INEI - ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán

Dra. Marina Palermo
IMEX-CONICET- Academia Nacional de
Medicina

Dra. María Victoria Ramos
IMEX - CONICET- Academia Nacional de
Medicina

Dra. María Julia Ruiz
FCV-CIVETAN-UNCPBA

Dra. Flavia Sacerdoti
IFIBIO-Houssay, Fac. Medicina-UBA-
CONICET

PALABRAS DE BIENVENIDA

Estimados colegas

En nombre del Comité Organizador les damos una cordial bienvenida al "II Simposio Nacional sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC/VTEC) responsable del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH)".

La iniciativa de llevar a cabo este evento surge de la necesidad de promover un encuentro multidisciplinario, propiciando el intercambio de conocimientos en investigación científica básica y aplicada, que contribuya a abordar un problema global con epicentro en nuestro país: el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH).

Este Simposio permitirá fortalecer los vínculos entre los diferentes integrantes de los grupos que a nivel nacional realizan investigación en detección y caracterización de STEC, epidemiología y genómica de STEC, prevención, control y tratamiento de STEC en reservorios y humanos, y patogenia y respuesta del hospedador. La actualización científica y la capacitación de recursos humanos en estos ejes, promoverá en consecuencia una mayor conciencia en la sociedad sobre esta enfermedad.

Principalmente quisiéramos agradecer a los integrantes de los Comités Organizador y Científico por el tiempo y la dedicación invertida en el desarrollo tanto del Simposio como del Taller. Agradecemos también a los disertantes, científicos argentinos y extranjeros destacados e investigadores jóvenes y profesionales de la salud de diversas disciplinas, que se comprometieron a participar y que abordaron temáticas diversas de gran interés para todos los grupos de investigación.

Destacamos el apoyo financiero del Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires, del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICpba). También hacer una mención especial a la participación de LuSUH (Lucha contra el Síndrome Urémico Hemolítico) formada por madres y padres afectados por SUH, quienes aportan experiencias comunitarias sobre la enfermedad y contribuyen a su difusión al ámbito social.

Esperamos con este evento poder cumplir con las expectativas de todos los inscriptos que con su participación, contribuyeron a la concreción con éxito del Simposio y especialmente que contribuya a la formación de los jóvenes investigadores de nuestro país.



Dra. Analía Inés Etcheverría
FCV-CIVETAN-UNCPBA
Vicepresidenta VTEC 2024



Dra dola
FCV-CIVETAN-UNCPBA
Presidenta VTEC 2024

TALLER LACER-VTEC 2024
“AVANCES EN LA INVESTIGACIÓN EN E.COLI PATÓGENAS EN
LATINOAMÉRICA”

**Lugar: Biblioteca de la UNICEN (Campus Universitario, Paraje Arroyo Seco, Ciudad
de Tandil, Buenos Aires, Argentina)**
15 de MAYO de 2024

CHARLA INICIAL

Alfredo G. Torres
Presidente de LACER
University of Texas Medical Branch, Estados Unidos
altorres@utmb.edu

EL PRESENTE Y FUTURO DE LACER: PROMOVER LA “ONE HEALTH” EN LA
REGIÓN LATINOAMERICANA

Una de las misiones de la Coalición Latinoamericana para la Investigación de Escherichia coli (LACER) siempre ha sido reunir a investigadores, científicos y profesionales de la salud de varios países latinoamericanos para fomentar la cooperación y la investigación innovadora destinada a abordar los desafíos que plantea la infección por *E. coli*. Al promover el diálogo científico y fomentar la colaboración internacional, la coalición busca mejorar las capacidades de investigación de la región, cerrar las brechas de conocimiento y brindar recomendaciones basadas en evidencia a los formuladores de políticas sanitarias y proveedores de atención médica. LACER también desempeña un papel crucial en la sensibilización sobre la infección por *E. coli*, la promoción de programas educativos y de capacitación y la promoción de mejores sistemas de vigilancia e intervenciones de salud pública. Por lo tanto, para continuar con su misión, LACER requiere la participación de individuos del mundo académico, agencias gubernamentales y el sector privado para promover un enfoque holístico de la investigación de *E. coli*. A través de la participación de sus miembros, LACER necesita mejorar la prevención, el diagnóstico y el tratamiento, con el objetivo final de mitigar el impacto de *E. coli* en la salud pública mediante la estrategia “One Health”

Roxane Piazza
Laboratório de Bacteriologia, Centro de Desenvolvimento de Anticorpos, Instituto
Butantan, São Paulo, SP, Brasil
roxane.piazza@butantan.gov.br

ANTICUERPOS MONOCLONALES Y RECOMBINANTES: HERRAMIENTAS PARA EL
DIAGNÓSTICO DE STEC Y TRATAMIENTO DEL SUH

Los anticuerpos son moléculas fundamentales en el sistema inmunológico, capaces de reconocer antígenos y unirse a ellos, desempeñando funciones cruciales en la defensa del organismo. Su versatilidad y especificidad los hacen valiosos para ser utilizados en diversas aplicaciones. Existen varios enfoques para generar anticuerpos para diferentes aplicaciones. Por una parte, la inmunización de animales puede producir anticuerpos policlonales (pAb), y

por otro, la inmortalización de linfocitos o la tecnología recombinante pueden generar anticuerpos monoclonales (mAb) o recombinantes, respectivamente. Además, la tecnología de hibridomas revolucionó la producción de mAbs, y permitió la generación de anticuerpos específicos a gran escala. Sin embargo, el uso de animales y la dependencia de la maduración de anticuerpos son limitaciones de este enfoque. Asimismo, la quimerización y la humanización, mejoraron la eficacia de los mAbs, y permitieron la aprobación de fragmentos de anticuerpos para uso terapéutico y diagnóstico. En este sentido, los fragmentos Fab y scFv tienen la característica de mejorar la penetración en los tejidos, la farmacocinética y el reconocimiento de epítomos, y minimizan los efectos tóxicos asociados con la porción Fc. La técnica de “phage display” y la presentación en levaduras permitió el desarrollo de fragmentos de anticuerpos recombinantes, como alternativa a los hibridomas, especialmente para antígenos con baja inmunogenicidad. Además, los sistemas de expresión microbiana son una opción más económica de producción de anticuerpos específicos. En este contexto, desarrollamos ensayos inmunoserológicos para el diagnóstico de infecciones causadas por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), utilizando anticuerpos mAb y pAb. La aglutinación con látex (mAbstx1 y mAbstx2) mostró una sensibilidad del 99 % y una especificidad del 95 %; en el ensayo ELISA usando mAbStx1 se obtuvo 100% de sensibilidad y 98% de especificidad y cuando se usó mAbStx2 se obtuvo 92% de sensibilidad y 100% de especificidad; en el ensayo de inmunocromatografía usando mAbStx1, la sensibilidad presentada fue del 98% y 97% de especificidad y cuando se usó mAbStx2 la sensibilidad fue de 92% y 98% de especificidad. Estos ensayos han demostrado una alta sensibilidad y especificidad en la detección de Stx, ofreciendo herramientas sólidas para diagnosticar estas infecciones. Además, se generaron fragmentos de anticuerpos recombinantes, como scFv y Fab, para aplicación terapéutica contra las toxinas Stx1 y Stx2; entre ellos, FabC11:Stx1/Stx2, que tiene una afinidad de 7×10^{-9} M por la toxina Stx2 y 3×10^{-8} M por Stx1. La reacción cruzada FabC11:Stx1/Stx2 se debe al epítomo de unión GKIEFSKYNEDDTF, ubicado en la subunidad B de ambas toxinas. Estos fragmentos demostraron la capacidad de neutralizar la citotoxicidad de toxinas en diferentes modelos celulares y animales, lo que indica su potencial como terapia contra la intoxicación por STEC. Esta capacidad neutralizante parece implicar el bloqueo del sitio de unión al receptor, impidiendo la translocación efectiva de la subunidad A a las células diana. En resumen, los anticuerpos monoclonales y recombinantes son herramientas poderosas para el diagnóstico y la terapia de enfermedades, y ofrecen especificidad, eficacia y potencial para una amplia gama de aplicaciones biotecnológicas.

Claudia Carolina Carbonari

Servicio Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS “Dr.

Carlos G. Malbrán”. Buenos Aires

ccarbonari@anlis.gob.ar

**EXPERIENCIA EN EL DIAGNÓSTICO DEC, UNA VIGILANCIA SESGADA EN EL MARCO
DEL ESTUDIO DE LAS INFECCIONES POR STEC**

Por definición DEC es un grupo heterogéneo de organismos que poseen distintos factores de virulencia y causan diferentes síndromes diarreicos: *E. coli* enteropatógeno (EPEC), *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), *E. coli* enteroinvasivo (EIEC), *E. coli* enteroagregativo (EAEC) y *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC). Por presentar características bioquímicas indistinguibles de otras *E. coli* es necesario el uso de metodologías moleculares para su diagnóstico. El Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) implementa un flujograma de

diagnóstico para la detección y caracterización (PCR RT y punto final) y la secuenciación de genoma completo (SGC). El objetivo de este trabajo es describir las características de las cepas de DEC que se aislaron durante el periodo 2022-2023, en el marco de la vigilancia de las infecciones por STEC a nivel nacional. Se identificaron y caracterizaron STEC (n=338), EAEC (n=89), EPEC (n=62), ETEC (n=19) y EIEC (n=13). El flujograma de análisis: incluyó: Control de calidad: FastQC. Identificación: Kraken. Caracterización de genes de virulencia, resistencia y plásmidos: ARIBA (Virulencefinder, Resfinder y Plasmidfinder). Serotipificación y MLST: srst2. Para el ensamble, anotación y análisis del pangenoma: Unicycler, Prokka y Roary, respectivamente. Por último, el estudio de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) con Snippy. Se obtuvieron los siguientes resultados: STEC: O157:H7-ST11/7816/7825/8343/novel*, O145:H28-ST32, O121:H19-ST655, O26:H11-ST21/1573, O103:H2-ST1967/17, y otros en menor frecuencia. Se observan variaciones en los perfiles genéticos: eae, epeA, espA, espB, espF, espl, espJ, espP, ehxA, eilA, nleA, nleB, nleC, stx1, stx2, subA, tccP, terC. EAEC: O153:H2-ST10, O21:H2-ST10, O99:H10-ST34, O15:H6-ST69 principalmente. Es un grupo muy heterogéneo, se identificaron AAF I-V, aggR, aaiC, aat, aap, pic, pet, iha, astA, sat, sepA, siga, ORF3, ORF4, aar, afaA, gad, hra, ireA, irp2, iss, iutA, kpsE, yfcV entre otros. Además blaCTX-M15, aph(6), aph(3"), sul2, blaTEM-1, parC, glpT, cyaA, como marcadores de resistencia. Se identificó EAEC-stx O59:H19-ST1136, agg4A. EPEC: O157:H12/H16-ST10, O132:H8-ST327, O11:H16-ST10, O156:H8-ST327. Se detectaron los genes AslA, anr, csgA, cvaC, eae, ehxA, espP, espY2, etsC, fdeC, fimH, gad, hlyE, hlyF, ompT, sitA, terC, yehA, yehB, yehC, yehD y yghJ entre otros. ETEC: O128:H45-ST2332, O169:H41-ST182, O8:H2-ST1114. Se identificaron los genes anr, astA, cfaA, cfaB, cfaC, cfaD, cfaE, capU, , cea, eilA, espC, estah_Sta, csgA, etsC, cssA, cssB, cssC, cssD, eatA, terC, nlpl, tir, traT y ompT entre otros. EIEC: O96:H19-ST99, O124:H30-ST6, O98:H19-ST4267, O28:H7-ST311, O124-O164:H7 ST270, ONT:H16 ST152. Se encontraron los genes de virulencia anr, nlpl, sitA, terC, yehA y yehC y el replicón para plásmido de tipo IncFI. La SGC nos permitió obtener perfiles de virulencia más completos a los estudiados sólo por PCR, especificando el potencial patogénico de DEC. Dado que el LNR recibe muestras de casos de gastroenteritis para descartar principalmente infecciones por STEC, no se ha podido establecer una frecuencia real de asociación de patotipos de DEC a diarreas. Es necesario entonces fortalecer el estudio de las diarreas y la notificación de los patógenos asociados para poder contar con la casuística real de las infecciones causadas por DEC. Esto permitirá conocer la situación epidemiológica a nivel nacional para dar respuesta a diferentes problemáticas en Salud Pública.

Fernando Navarro Garcia

Departamento de Biología Celular, CINVESTAV, México

fnavarro@cinvestav.mx

**DINÁMICA DE LOS SISTEMAS DE SECRECIÓN DE ESCHERICHIA COLI
ENTEROHEMORRÁGICA**

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) causa diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (HUS) a partir de una baja dosis infecciosa. Los factores de virulencia más relevantes de esta bacteria son la toxina Shiga y el sistema de secreción tipo III (T3SS). Interesantemente, EHEC EDL933 también posee otros sistemas de secreción (SS) asociados a factores de virulencia (T1SS, T2SS, T5SS y T6SS), sin embargo, la función de estos SS cuando EHEC infecta células epiteliales no se ha caracterizado. En EHEC se han reportado proteínas efectoras secretadas por estos SS, pero se desconoce qué estímulos ambientales

provocan la expresión de estos sistemas y si existe cooperación entre ellos para la secreción o translocación de otros factores de virulencia. El objetivo de mi charla es discutir la dinámica de expresión de los diferentes SS de EHEC durante el curso de infecciones en células epiteliales humanas. Por lo que es importante determinar condiciones de cultivo in vitro que induzcan la activación de los diferentes SS en EHEC y determinar el secretoma durante la interacción EHEC-célula epitelial incluyendo: el perfil de secreción de proteínas cuando estimulamos la expresión de los diferentes SS en EHEC en comparación con mutantes isogénicas de cada tipo de sistema, adicionalmente y de suma importancia, determinar cuál es la jerarquía de expresión de cada uno de los SS de EHEC durante la infección. El poder entender cómo EHEC utiliza estratégicamente todos sus sistemas de secreción para translocar hacia la célula hospedera y liberar al medio extracelular una amplia gama de factores de virulencia nos permitirá entender la patogénesis de enfermedad hacia la búsqueda de mecanismos atenuantes.

Lucía Galli

**Instituto de Genética Veterinaria "Ingeniero Fernando Noel Dulout" (IGEVET-
CONICET/FCV-UNLP)**

lgalli@igevet.gob.ar

OJOS QUE NO VEN...IDENTIFICACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* DIARREIGÉNICAS EN MUESTRAS DE AGUA DE RÍO Y ARROYO

El agua es un recurso fundamental para la vida, pero en ocasiones puede convertirse en el vehículo de agentes causantes de enfermedades, que han llegado a ella a través del vuelco de desechos de diferentes actividades humanas. Si bien el uso de microorganismos indicadores permite a las autoridades sanitarias determinar el grado de contaminación de un agua superficial de manera sencilla y económica, podrían no reflejar los niveles de patógenos reales, es por ello que algunos países han modificado algunos parámetros de calidad de agua. El Río de la Plata nace de la unión de los ríos Paraná y Uruguay y desemboca en el océano Atlántico. Tiene una forma triangular de 290 km de largo y un ancho de 221 km, lo que lo convierte en el río más ancho del mundo. Se utiliza para actividades recreativas, fuente de captación para agua de consumo y como sitio de descarga de aguas residuales domiciliarias e industriales. En el marco de un estudio de evaluación cuantitativa de riesgo microbiológico de aguas de uso recreativo, se realizó un análisis descriptivo de una zona costera del Río de la Plata, con dos escenarios de riesgo potencial diferentes: una playa muy contaminada (A) y una zona aparentemente segura (B), en las que se identificaron que el 93,3% de las muestras de la playa A y el 56,5% de las muestras de la playa B excedieron los límites de los recuentos establecidos por normativa para los indicadores de contaminación fecal tradicionales como E. coli y enterococos y se pudieron aislar distintos patógenos microbianos entre los que podemos destacar al grupo de Escherichia coli diarregénicos (DEC): EPEC, EAEC, ETEC y EIEC; mientras que STEC no se identificó en ninguna de las muestras. La frecuencia de detección y aislamiento de bacterias en las dos playas estudiadas fue significativamente diferente, con un claro aumento en las proximidades de la descarga de aguas residuales (playa A). Estudios de epidemiología molecular de los aislamientos, durante el mismo período de análisis, mostraron una gran similitud entre algunas cepas O157 de este estudio y aislamientos de origen clínico de localidades muy distantes del país. Al mismo tiempo, se encontraron patrones únicos de los aislamientos ambientales que muestran una gran diversidad entre las cepas DEC confirmando la importancia del medio ambiente como medio para la aparición de nuevas cepas patógenas. La descripción taxonómica de patógenos microbianos en aguas fluviales permite identificar los microorganismos que

infectan a la población que habita en sus orillas pero también patógenos no reportados previamente por el sistema de vigilancia clínica. Por ello se destaca la importancia no sólo de la epidemiología clínica, sino también la vigilancia activa de la epidemiología ambiental, bajo el concepto de una sola salud, que debería formar parte de las agendas de las políticas públicas.

Isabel Chinen

Unidad de Gestión de Amenazas Infecciosas (IHM). Departamento de Emergencias en Salud (PHE), OPS

chinenisa@paho.org

DESAFÍOS DE LA VIGILANCIA GENÓMICA DE STEC EN LATINOAMÉRICA Y EL CARIBE

Las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) son de relevancia internacional, por su alto impacto en la población por las enfermedades severas (síndrome urémico hemolítico-SUH) y secuelas que produce, así como también por los costos en los sistemas de salud. Se sabe, además, que el diagnóstico de STEC a su vez es complejo por las características de virulencia particulares y diversas que presenta el microorganismo para establecer su asociación a las enfermedades. Por lo que el advenimiento de las nuevas tecnologías representa un aporte fundamental para la mejora de los sistemas de diagnóstico y vigilancia de los agentes patógenos asociados a las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), siendo STEC uno de los más significativos. Se ha demostrado que la secuenciación de genoma completo (SGC) es de alto valor diagnóstico y presenta un alto poder discriminatorio para su aplicación a la epidemiología genómica. En este contexto la SGC ha demostrado mejoras sustantivas respecto al uso de otras metodologías lo que motiva a los países a avanzar hacia la vigilancia genómica. Desde la Región se está trabajando en la incorporación de la SGC como componente esencial para el fortalecimiento de los sistemas de salud. Dada la alta resolución, mediante la aplicación a estudios epidemiológicos de STEC se ha logrado mejorar la definición de brote, establecer el vínculo entre el vehículo/fuente al caso asociado, realizar asociaciones epidemiológicas en forma retrospectiva, detectar "clusters" en forma temprana, contribuir al geo- referenciamiento de los casos, entre otros resultados de relevancia. En los países desarrollados se utiliza en la vigilancia de rutina. En la Región, se ha trabajado en el marco de la Red PulseNet América Latina y el Caribe, Red de vigilancia molecular/genómica de los patógenos asociados a ETA, y específicamente se ha avanzado en su utilización para STEC. Actualmente, se encuentra en etapa de implementación, mediante cursos de capacitación, adquisición de equipamiento, instalación de infraestructura, y unificación de protocolos para su estandarización. La vigilancia regional es fundamental ya que permite la detección temprana y el monitoreo de la circulación del patógeno en los diferentes países y así poder contribuir a las estrategias de control y prevención de enfermedad severa como lo es el SUH.

Mariano Larzabal

**Instituto de Agrobiotecnología Molecular (IABIMO) INTA-CONICET, Buenos Aires,
Argentina**

larzabal.mariano@inta.gob.ar

VACUNA MULTIVALENTE PARA BOVINOS CONTRA LA COLONIZACIÓN DE *Escherichia coli* enterohemorrágica O157:H7 Y CONTRA LA DIARREA NEONATAL EN TERNEROS

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 es un patógeno zoonótico que constituye un grave problema de salud pública siendo el principal agente responsable del síndrome urémico hemolítico (SUH). Los bovinos son el principal reservorio de EHEC O157:H7 que es eliminada por materia fecal. La contaminación de los alimentos, así como el ambiente causan un impacto económico a nivel sanitario y de producción. La vacunación del ganado bovino contra EHEC O157:H7 consistiría en la estrategia más efectiva de intervención pre-faena, pudiendo generar una respuesta inmune capaz de reducir la colonización intestinal del ganado y su excreción al medio ambiente, a la vez que permitiría reducir el riesgo de contaminación de la carne durante la faena generando una menor cantidad de casos de SUH. El sistema de secreción de tipo III (SST3) se encuentra asociado a la colonización intestinal de EHEC O157:H7. Demostramos que la vacunación con proteínas fusionadas del SST3 generó elevados títulos de respuesta inmune sérica en diferentes modelos animales incluidos los bovinos. La producción de IgG específica logró reducir la colonización y excreción de EHEC O157:H7 en estos modelos. Los costos atribuidos a la administración de una vacuna específica contra EHEC O157:H7 dificulta su comerciabilidad. Por otra parte, la diarrea neonatal del ternero (DNT) es una enfermedad multifactorial del ganado recién nacido. La vacunación frente a estos agentes evita importantes pérdidas económicas. Esto condujo a la vinculación de organismos públicos y privados nacionales como Bioinnovo, INTA y CONICET a desarrollar una plataforma vacunal multivalente con expresión de antígenos de fusión del SST3 de EHEC O157:H7 en la superficie de agentes responsables de la DNT. Este producto de transferencia tecnológica permitirá reducir la colonización del bovino y excreción de EHEC O157:H7 al ambiente, colaborando con la salud pública y al cuidado del medio ambiente además de otorgar un valor agregado diferencial a la producción cárnica argentina.

Nora Lía Padola

**Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología Facultad Ciencias Veterinarias-
CIVETAN (CONICET-CIC-UNICPBA)
nlpadola@vet.unicen.edu.ar**

EPIDEMIOLOGÍA DE STEC BAJO EL CONCEPTO UNA SALUD

Desde hace más de 30 años, el Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología ha desarrollado tareas de investigación vinculadas a la salud pública y sanidad animal, con énfasis en la cadena de transmisión de STEC y otras bacterias productoras de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), utilizando técnicas de Biología Molecular. Con énfasis en STEC, a nivel del primer eslabón de la cadena epidemiológica aislamos y caracterizamos STEC, en reservorios bovino, porcino y aviar, determinando que los bovinos en pastoreo, en feedlot y en distintas categorías de ganado lechero son reservorios de cepas de STEC con potencialidad para producir SUH, encontrando diferencias significativas entre terneros jóvenes (portadores de STEC LEE-positivas) y adultos (portadores de STEC LEE-negativas), y en el medio ambiente de animales: suelo y agua de bebederos de diferentes categorías de bovinos. A nivel del segundo eslabón de la cadena epidemiológica, detectamos STEC O157 y no-O157 en medias reses de frigoríficos, y en cabina sanitaria. Una STEC O157 de una media res y otra O157 aislada de un niño con SUH del mismo espacio geográfico y temporal se compararon por secuenciación genómica, difiriendo sólo en el subtipo de Stx, demostrando

el potencial de virulencia de las cepas STEC circulantes. Para estudiar el tercer eslabón de la cadena participamos del Programa Carnicerías Saludables, con la detección, aislamiento y caracterización geno-fenotípica de STEC no-O157 en carne picada y ambiente de las carnicerías y desarrollamos un programa piloto de acompañamiento de PUPAs en la región de Tandil, subsidiado en la convocatoria “Argentina contra el Hambre”. Contamos con un cepario de más de 1000 cepas STEC aisladas de Argentina Chile y Paraguay, consecuencia de colaboraciones con grupos de la red LACER. Las cepas están tipificadas y subtipificadas geno-fenotípicamente, incluyendo genes codificantes de resistencia antimicrobiana. Se han estudiado factores de virulencia adicionales mediante tipificación y subtipificación genética: MLVA, MLST, caracterización de genes plasmídicos y de islas de patogenicidad en cepas STEC aisladas de reservorios, medio ambiente y alimentos, que influyen en la colonización de los animales, en la supervivencia en el medio ambiente o bajo formas de estrés y en la contaminación a lo largo de distintos puntos de la cadena de producción-comercialización. Como medida de control se aislaron bacterias con capacidad probiótica de colon bovino y de carne porcina, que inhibieron in vitro a bacterias STEC nativas, se purificaron sus bacteriocinas y se realizaron estudios de inhibición de biofilm, especialmente con *Lactiplantibacillus plantarum*. Nuestros estudios sobre bacteriófagos hicieron énfasis, principalmente, en características presentes en profagos codificantes de toxina Shiga presentes en las cepas STEC nativas, aislamiento y la caracterización de bacteriófagos (estrictamente líticos), útiles para el biocontrol de STEC y también como fuente de enzimas que puedan tener efecto lítico sobre STEC o ayuden en la eliminación de biofilms. Se ha comenzado con el estudio de colifagos somáticos presentes en el agua y efluentes de tambos, con la finalidad de conocer su rol en la movilización de genes de resistencia a antimicrobianos.

Rosa Guillén

Departamento de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Químicas – Universidad Nacional de Asunción. Departamento de Microbiología. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

ranguillen@gmail.com

STEC DE BOVINOS PARAGUAYOS: UN ABORDAJE DESDE LA SECUENCIACIÓN DE GENOMAS

Escherichia coli es un comensal de la microbiota intestinal, sin embargo existen cepas patógenas asociadas a cuadros tanto intestinales como extraintestinales. Uno de estos patotipos es la E. coli productora de toxina Shiga (STEC) que puede causar desde diarreas leves hasta colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. El ganado bovino es uno de sus principales reservorios y la transmisión a seres humanos se produce por consumo de alimentos contaminados, por el contacto directo del hombre con los animales, y también de persona a persona por la ruta fecal-oral. Con el objetivo de estudiar la variabilidad genética y caracterizar molecularmente se analizaron los genomas completos de 40 cepas STEC aisladas de hisopados rectales de bovinos de establecimientos ganaderos de los departamentos de San Pedro, Cordillera, Caaguazu, Paraguarí y Villa Hayes en Paraguay. La caracterización previa de los aislados y su clasificación como STEC se llevó a cabo por PCR convencional para identificar la portación de los genes *stx1* y *stx2*. La secuenciación de genoma se realizó utilizando la plataforma Illumina MiSeq. Para la caracterización molecular de las cepas se utilizaron las herramientas web del Center for Genomic Epidemiology (CGE). MLST Finder (*E. coli* set #1), ResFinder y Serotypefinder fueron utilizadas para determinar el secuenciotipo, genes relacionados a resistencia a antibióticos y el serotipo de las cepas. Se

determinó la presencia de 29 secuenciotipos diferentes entre las cepas, siendo los más frecuentes ST58 (n=3) y ST11729 (n=3). En cuanto a resistencia a antibióticos, se detectó la presencia del gen *fosA7* relacionado con la resistencia a fosfomicina en el 10% de las cepas (n=4). Ninguna de las cepas pertenecía al serotipo O157:H7 ni a ninguno de los serotipos pertenecientes al grupo de las big six (O26, O45, O103, O111, O121, and O145). El serotipo encontrado con mayor frecuencia fue el O74 H42 (n=3). Este constituye el primer reporte de la variabilidad genética de cepas STEC aisladas de ganado bovino en el Paraguay y dada la importancia de la ganadería en la economía del país se debe continuar realizando la vigilancia epidemiológica de cepas patógenas.

Gustavo Varela

Unidad Académica de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay.

gvarela@higiene.edu.uy

CARACTERÍSTICAS DE CEPAS STEC RECUPERADAS DE CARCASAS BOVINAS Y DE ALIMENTOS

Escherichia coli productora de toxina Shiga (STEC) causa enfermedades transmitidas por alimentos. El objetivo fue caracterizar STEC recuperadas de canales bovinas y de carne. Se estudiaron 78 STEC, 39 de carcasas bovinas y 39 de carne. Las 39 STEC de carne correspondieron al serotipo O157:H7 y en las 4 que se realizó MLST se confirmó el ST11. Todas portaron el gen *eae* (γ 1) y la distribución de los tipos del gen *stx* fue: 59% presentaron el gen *stx1*, 95% *stx2*, y 51% ambos. El gen *lpf* se detectó en todos los aislamientos, *iha* se presentó en el 86%. *hcpA* se detectó en el 68% de los casos mientras que F9 se halló en el 92%; *tccp* y *espJ* se presentaron ambos alta prevalencia (95%). Sólo 3 correspondieron al clado 8. Las 3 correspondieron al ST11. Sólo una mostró resistencia para ampicilina, trimetoprim- sulfametoxazol y gentamicina. De las 39 de carcasas, solo una fue O157:H7. Predominaron los serotipos O130:H11, O174:H28 y O22:H8. Seis portaban únicamente el gen *stx1*; 17 *stx2*, y 16 ambos. Los genes más prevalentes incluyeron los correspondientes a factores de adherencia, *lpfA* (n=38) e *iha* (n=30). El gen *chuA* solo se detectó en la cepa O157:H7. El gen *eae* se detectó sólo en dos, una O157:H7 y una O182:H25. Ningún gen marcador de otros patotipos diarreogénicos se detectó en este conjunto. Ninguna de las STEC recuperadas de carcasas mostró resistencia. La distribución de los 38 no-O157 según grupos de riesgo FAO/OMS, con los serogrupos vinculados, fue: nivel 1: ninguno; Nivel 2: 7 aislamientos (O22:H8{2}, O113:H21{1}, O130:H11{2}, O174:H21{2}); nivel 3: ninguno; nivel 4: 1 (O182:H25); nivel 5: 30. Este es el primer estudio local sobre la presencia de STEC en canales de bovinos, y sobre las características de las cepas involucradas, así como de STEC recuperadas de carne para exportar.

MESA DE CIERRE: OPORTUNIDADES DE FINANCIAMIENTOS COLABORATIVOS

Ángel Cataldi

Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA- CONICET, Argentina.

Cristina Ibarra

IFIBIO-Houssay (UBA-CONICET), Facultad de Medicina UBA, Argentina

**SEGUNDO SIMPOSIO ARGENTINO DE ESCHERICHIA COLI
PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA RESPONSABLE DEL
SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO**

DÍA 1: 16 DE MAYO

APERTURA

08.00 h: Acreditación y colocación de pósters

08.30 h: Ceremonia de Apertura. Autoridades de la Universidad Nacional de Centro de la Provincia de Buenos Aires

09.00 h: Conferencia plenaria

ANGEL ADRIAN CATALDI

Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) – INTA-CONICET. (Dr. Nicolás Repetto y Los Reseros, S/N, Buenos Aires, Argentina)

OBSERVACIONES Y REFLEXIONES SOBRE LA VIRULENCIA DE *E. COLI*

Escherichia coli es una bacteria genéticamente diversa que habita en el intestino de mamíferos. Esta diversidad se ve reflejada en un genoma promedio de 4700 genes y un pangenoma de 15000 genes que determinan las características distintivas de *E. coli* para ser dependiendo del genotipo comensal, patógena o patobionte. Nuestro trabajo se centra en dilucidar las bases genéticas de la virulencia de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), en particular el serotipo *E. coli* O157:H7. EHEC pueden ser divididas en clados o linajes y algunos de los cuales están asociados a la hipervirulencia en humanos. Especialmente caracterizamos la virulencia de cepas EHEC O157 de clado 8 aisladas de bovinos en Argentina. Uno de los principales (sino el principal) factor de virulencia es la toxina Shiga-2 (Stx2) que se encuentra codificada en bacteriofagos de tipo lambdoide. Hasta el presente sabemos que ciertos alelos de las proteínas O y P del fago están asociados a una producción exacerbada de Stx2 y que la casi totalidad de la producción de Stx2 *en* aquellas cepas de EHEC que poseen *stx2a* y *stx2c* es a expensas del operón *stx2a*. Por último, realizamos intensas investigaciones para identificar el promotor pR' que dirige la expresión de *stx2a*. Recientemente nos centramos en la estructura de fagos que promueven la alta expresión de *stx2a* aunque son fagos defectivos, que no son líticos. Otro atributo de virulencia es el sistema de secreción de tipo III (SST3). Investigaciones enfocadas en este mecanismo permitieron identificar y caracterizar los efectores EspY3 y OspB. Actualmente, nos encontramos analizando las características y funciones del megaplásmido pO157, presente en todas las cepas de EHEC O157 y que al parecer se encuentra involucrado en la adaptación a diferentes nichos ecológicos del tracto gastrointestinal de los mamíferos. Como conclusión analizaremos qué sabemos y que no sabemos sobre la virulencia y patogenicidad de EHEC O157.

9.30 h: mesa redonda

DIAGNÓSTICO DE SUH, DETECCIÓN Y CARACTERIZACION DE STEC

COORDINADORAS

**Elizabeth Miliwebsky, Servicio Fisiopatogenia, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”
Lucia Galli, IGEVET-CONICET-Facultad de Cs Veterinarias, UNLP**

DISERTANTES

ROSANA MASSA

**Servicio Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS “Dr.
Carlos G. Malbrán”. Buenos Aires
rmasa@anlis.gob.ar**

APLICACIÓN DEL ALGORITMO OPORTUNO DE DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES POR *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA

El diagnóstico de las infecciones por STEC representa un gran desafío para el laboratorio de bacteriología hospitalario como para el referencial, siendo muy importante el diagnóstico oportuno a nivel local. La detección de STEC requiere de metodologías de tamizaje molecular con una sensibilidad adecuada. En la actualidad se dispone de diferentes estrategias para dar un diagnóstico oportuno. Se cuenta con el diagnóstico indirecto de la infección mediante la detección de anticuerpos anti-lipopolisáridos en el suero del paciente utilizando metodologías comerciales como glico-ELISA e inmunocromatografía. A partir de la muestra de materia fecal (MF) existen por un lado, sistemas moleculares automatizados que sin necesidad de cultivos permiten detectar rápidamente una variedad de patógenos gastrointestinales; y por otro la metodología de PCR múltiple en tiempo real (mRT-PCR). Esta es una herramienta fundamental para el diagnóstico de tamizaje de STEC, donde el ADN extraído de la zona de crecimiento confluyente en placas de cultivo, se testea para detectar simultáneamente los genes *stx1*, *stx2* y *rfbO157*. El Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) cuenta con dos metodologías de mRT-PCR, las cuales amplifican diferentes fragmentos de los genes codificantes de *stx1* y *stx2*. En casos donde se requieran una mayor sensibilidad para la detección del patógeno, el LNR dispone de un procedimiento preliminar utilizando un kit para la extracción de ADN directo de MF y/o a partir de caldos de enriquecimiento, seguido del análisis por mRT-PCR. Además, la identificación rápida de colonias presuntivas de STEC O157 ahora es posible a partir de protocolos de análisis proteómico por MALDI-TOF. De todas maneras, en el algoritmo de diagnóstico se observan obstáculos que requieren ser resueltos en forma oportuna. Muchas veces debemos considerar que la detección de anticuerpos anti-lipopolisacáridos es el único diagnóstico disponible o posible de realizar, ya sea porque no se cuenta con biología molecular o no se dispone de MF. En la etapa de tamizaje directamente de MF, los métodos automatizados cumplen un rol fundamental en el diagnóstico, aún en muestras sin desarrollo. Sin embargo, se ha observado que cultivos de enriquecimiento son necesarios para aumentar la recuperación del patógeno. Contar con dos protocolos de m RT-PCR permite resolver casos donde el límite de detección de estas metodologías genera incertidumbre. Es de destacar que el aislamiento del patógeno es el principal criterio de infección y que la caracterización y subtipificación de los factores de virulencia aporta datos para la vigilancia del patógeno. En este sentido, los laboratorios de la Red de diarreas tienen el papel fundamental de derivar oportunamente las muestras siguiendo un flujograma de derivación desde los laboratorios de menor a mayor complejidad. En el LNR todos los aislamientos son caracterizados por secuenciación masiva del genoma. El análisis bioinformático de las secuencias proporciona de manera rápida el serotipo, la presencia de factores de virulencia, la subtipificación de toxina y el estudio de relación clonal y asociación

a brotes. Es importante mencionar que un análisis global incluyendo resultados generados en los distintos laboratorios, datos clínicos y epidemiológicos son necesarios para alcanzar el óptimo y oportuno diagnóstico.

MARIA PAZ BONINO

**Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de
Microbiología. Buenos Aires, Argentina
mpazbonino@fvvet.uba.ar**

**ANÁLISIS DE RIESGO MOLECULAR DE AISLAMIENTOS STEC NO-O157 DE
DIVERSAS FUENTES DE INFECCIÓN EN COMPARACIÓN CON LAS TOP SEVEN**

Escherichia coli shigatoxigénico (STEC) codifica diferentes elementos genéticos asociados con seropatótipos y a su vez con virulencia bacteriana, permitiendo la identificación del riesgo molecular (RM). Entre las cepas LEE-negativas, se reconocen aquellas que codifican la isla LAA como factor de adhesión. Tierra del Fuego (TDF), se caracteriza por altas tasas de síndrome urémico hemolítico (SUH). Las restricciones sanitarias en la importación de ganado en pie permiten considerar la circulación de cepas propias con un perfil de virulencia diferente del resto del país.

El objetivo del presente trabajo fue comparar el RM entre aislamientos de diferente fuente de infección procedentes de TDF y cepas de referencia del top seven.

Se analizaron mediante PCR siete cepas procedentes de TDF (dos de carne picada, tres de bovinos y dos de carcasas ovinas) para determinar la presencia/ausencia de 24 genes asociados a virulencia. Se llevó a cabo serología clásica para el serotipo. Se descargaron secuencias de cepas de referencia de bases de datos internacionales pertenecientes al top seven. El criterio de selección de los genomas se basó en la longitud del genoma, valor de L50 y N50. Se analizaron las mismas mediante PCR *in silico*. Los resultados fueron agrupados en 12 categorías: tipo de toxina, subtipo de *stx2*, de *stx1*, seropatótipo (SPT), adhesinas, factores de colonización, hemolisinas, quelantes, factores adicionales, sistema de secreción tipo II, genes no determinados y gen control. Mediante el análisis del índice del perfil analítico se estableció un número de 12 dígitos característico de cada una de las cepas bajo estudio. Se determinó la presencia del gen *hes* y de la isla LAA, lo que clasificó a las cepas como: LAA-positivas (4 módulos), LAA-incompletas (1 a 3 módulos) y LAA-negativas (sin módulos).

En orden decreciente según el valor asignado, la cepa O157:H7 se estableció como la de mayor RM seguida de una cepa O26:H11. A continuación, se identificaron dos cepas de TDF una de carne picada (LAA-incompleta/*hes* positiva) y una de carcasa ovina (LAA-negativa). Las mismas difirieron en tipo y subtipo de toxina, patrón de hemolisinas, quelantes, genes no determinados y gen control. Luego, se ubican dos cepas pertenecientes al top seven (O145:H25 y O121:H19) seguidas de cinco aislamientos de TDF. Las mismas comparten como característica común la codificación de *stx2*, carecer de *stx1* y no codificar quelantes, presentando diferentes patrones de genes en los criterios restantes. Dos de ellas pertenecen al SPT C ambas LAA-incompleta y de las tres restantes una de ellas se clasifica como LAA-incompleta/*hes* positiva y las otras dos LAA-negativa. Llamativamente las tres últimas posiciones son ocupadas por cepas del top seven (O111:H8, O103:H11 y O45:H2). Cada cepa presentó un patrón único.

Las cepas se establecerían con un significativo RM, ya que no se observan diferencias considerables entre las cepas top seven y los aislados en estudio, quienes además codifican factores de adhesión alternativos a LEE. Su RM alertaría sobre su posible relación con

patologías como el SUH. Este trabajo permitió identificar cepas locales de riesgo cuya expresión de factores de virulencia deberá verificarse.

ANALIA INES ETCHEVERRÍA
Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Facultad de Ciencias Veterinarias,
CIVETAN, UNCPBA
analiain@vet.unicen.edu.ar
ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS STEC AISLADAS DE
ALIMENTOS Y MEDIO AMBIENTE

Escherichia coli productora de toxina Shiga (STEC) es agente causal de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA). Puede producir diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. La infección del hombre se asocia con el consumo de carnes, productos lácteos, verduras y agua contaminados, y también con el contacto persona-persona, con animales y con el medio ambiente. Diferentes especies animales son consideradas reservorios de STEC pudiendo eliminar la bacteria favoreciendo la contaminación de alimentos y ambientes. Para ello, estudiamos la presencia de STEC en alimentos de diferentes orígenes y en ambientes. En alimentos derivados de pollo, encontramos STEC en 3,2 % de carcasas, 2,3% de menudos y 10,3 % de hamburguesas. En la cadena productiva porcina detectamos un 4,05% de las canales positivas. En carne bovina evaluamos la presencia de STEC en medias reses en frigorífico, cabinas sanitarias, carnicerías y cortes de carne, detectando en 12,34%; 18,64%; 2,5% y 33% respectivamente. En camiones que transportaban reses bovinas y porcinas, detectamos 40% de reses y 4% de camiones positivos. Para conocer el rol del medioambiente como reservorio de STEC evaluamos instalaciones de carnicerías (mesadas, cuchillas, tablas y picadoras), del ambiente del tambo (comederos, bebederos y suelo), y de paredes de camiones; en todos los ambientes detectamos STEC en diferentes prevalencias. Cuando realizamos la caracterización molecular de cepas aisladas, observamos que fueron portadoras de diferentes combinaciones de factores de virulencia y que hubo cepas O157 y no-O157 LAA positivas; y con serotipos compartidos entre cepas de derivados de bovinos, pollos, porcinos y ambiente. Las cepas fueron capaces de adherirse a líneas celulares y de formar biofilms en diferentes condiciones y superficies. Teniendo en cuenta que detectamos STEC con perfiles de virulencia de riesgo para el hombre, en alimentos y ambiente, es necesario implementar medidas de control y de detección que incluyan factores de virulencia que impliquen un riesgo para la salud humana.

10.30 h. Intervalo

11.00 h. Presentaciones orales

**O1 DESEMPEÑO DEL TEST CHEMSTRIP® E. COLI/O157/O145 PARA LA DETECCIÓN
DE ANTICUERPOS EN ETAPA AGUDA**

**SCHESI CF¹, MAIZTEGUI C¹, BASCHKIER A¹, LANDIVAR SM², MELLI LJ³, CIOCCHINI
AE², MILIWEBSKY E¹**

¹ Servicio Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires. ² Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín (IIB-UNSAM-CONICET), Buenos Aires. ³ Chemtest Argentina SA. cschesi@anlis.gob.ar

La infección por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) se puede presentar en forma asintomática, como diarrea con (DAS) o sin sangre (DA) o evolucionar a síndrome urémico hemolítico (SUH). Para tener un diagnóstico oportuno se plantea la necesidad de contar con un método rápido de detección en la etapa temprana de la infección. Si bien el diagnóstico definitivo es a partir del aislamiento del patógeno, la principal limitación radica en la dificultad de detectarlo. El empleo de las tiras reactivas (TR) inmunocromatográficas (CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145-Chemtest Argentina SA) para la detección rápida de anticuerpos IgM anti polisacárido O de *E. coli* O157 y O145, resultaría de mucha utilidad para ser aplicado en muestras de suero en la fase aguda de la infección. El objetivo de este trabajo fue evaluar el desempeño de las TR en muestras de suero humano. Se seleccionaron, 128 sueros de pacientes (DAS y/o SUH), clasificados en 4 categorías de acuerdo a resultados previos obtenidos por cultivo de materia fecal (MF) y/o por Glyco-iELISA CHEMLIS *E. coli* IgM O157 y O145 en suero: 1-Aislamiento O157 y/o IgM (+) para O157 (n=50); 2- Aislamiento O145 y/o IgM (+) para O145 (n=47); 3- Stx libre en MF sin recuperación del patógeno y Glyco-iELISA negativo (n=11) y 4- STEC negativo (n=20). Luego del procesamiento con las TR se obtuvieron los siguientes resultados: Las dos primeras categorías coincidieron en un 100% con el Glyco-iELISA. En la tercera, las tiras fueron negativas tanto para anti-O157 como para anti-O145, confirmando el resultado inicial por Glyco-iELISA y con la última categoría coincidieron los negativos por ambos métodos. Se evidenció un buen desempeño del test y debido a su simplicidad y fácil interpretación sería apropiado para el diagnóstico oportuno en pacientes con sospecha de infección por STEC.

O2 CARACTERIZACIÓN FILOGENÉTICA DE AISLAMIENTOS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA AISLADAS DE TAMBOS DE LA CUENCA MAR Y SIERRAS

GEREZ MG, HERNÁNDEZ LB, SANZO AM, BUSTAMANTE AV

Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN). CONICET-CICPBA. Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología. Tandil. Argentina. gabriela.gerez@vet.unicen.edu.ar

La mastitis bovina es una enfermedad compleja y costosa para la industria láctea por su elevada prevalencia y por las pérdidas económicas que ocasiona. *Escherichia coli* suele causar mastitis esporádica, cuyos signos clínicos varían desde formas leves a muy graves. El ganado bovino es el principal reservorio de *Escherichia coli* productor de toxina shiga (STEC). En el tambo, las cepas STEC pueden llegar a la leche a través del ordeño y del ambiente, mediante contaminación fecal. La estructura genética de *E. coli* es predominantemente clonal y pueden delimitarse diferentes grupos filogenéticos. Estudios previos han demostrado que las cepas que pertenecen a distintos filogrupos no se distribuyen al azar, sino que están asociadas a la fuente de aislamiento y a diferente capacidad de causar enfermedad. Nuestro objetivo fue aislar STEC de 5 tambos de la Cuenca Mar y Sierras (Provincia de Buenos Aires) a partir de muestras de leche y del ambiente (comederos, bebederos, suelo de corrales) y asignarle filogrupos. Mediante dos PCR multiplex se realizó la identificación de STEC (*eae*, *stx1* y *stx2*) y de filogrupos (*chuA*, *yjaA*, *tspE4.C2* y *arpA*). Los resultados se analizaron mediante un agrupamiento por UPGMA. Se identificaron 44 aislamientos STEC de leche y del ambiente en 6 perfiles de virulencia: *stx1* (52,2%), *stx1-stx2* (25,3%), *stx1-eae* (11,3%), *stx2* (4,5%), *stx1-stx2-eae* (4,5%), *stx2-eae* (2,2%). El

27,2% de las cepas perteneció al filogrupo B1, el 20,4%, al filogrupo E, el 15,9 %, al filogrupo B2, el 4,5%, al filogrupo C y el 32% restante fue indeterminado. Estos datos muestran que en los tambos de la Cuenca Mar y Sierras circulan cepas patógenas con distintas características genéticas y pertenecientes a distintos filogrupos que potencialmente podrían llegar a la leche.

O3 CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA EX VIVO DE LA ADHERENCIA DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORAS DE TOXINA SHIGA AL COLON DE BOVINOS

ALZOLA P¹, FERNÁNDEZ V², ETCHEVERRÍA A³, FELIPE A⁴, PADOLA NL³

¹ Laboratorio de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil- Bs.As. ² Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil-Bs. As. ³ Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Facultad de Ciencias Veterinarias, CIVETAN-CONICET-CIC- UNCPBA, Tandil- Bs.As. ⁴ Laboratorio de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil-Bs.As. pgalzola@vet.unicen.edu.ar

Las cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (STEC) son reconocidas como responsables de enfermedades de alto impacto en salud pública, como el síndrome urémico hemolítico. El bovino es el principal reservorio de la bacteria y el estudio de la interacción huésped-patógeno es fundamental para la intervención a nivel de control. Teniendo en cuenta la importancia de los serotipos O157 y no-O157, nos planteamos como objetivo el análisis histopatológico de explantes de colon posterior de ganado bovino, inoculados con STEC O157:H7 y O91:H21 LAA-positiva. Se efectuaron dos ensayos. En cada uno, dos explantes por cepa se colocaron sobre esponjas estériles en placas de poliestireno con medio RPMI 1640 y se inocularon con 25µl de un caldo LB conteniendo 2×10^7 UFC de cada uno de los serotipos mencionados. Tras la inoculación, se incubaron en agitación a 37°C en una atmósfera con 5% CO₂. Los tiempos de incubación fueron de 3h y 6h. Como control negativo, se cultivaron explantes sin inocular. Luego de cada incubación, los explantes se fijaron en formol bufferado 10% y se procesaron con técnica histológica de rutina para inclusión en parafina. Se realizaron cortes seriados de 5µm que se colorearon con hematoxilina de Mayer y Eosina y Giemsa.

En las muestras control se observó la histoarquitectura normal, sin presencia bacteriana. En las muestras inoculadas se detectaron bacterias adheridas y alteraciones tanto celulares como estructurales en el epitelio de revestimiento tales como desorganización (pérdida del orden normal de las células) y vacuolización (aspecto claro del citoplasma de las células). Se observó como principal diferencia entre ambos serotipos, una marcada descamación de células epiteliales con el serotipo O157:H7. Estos ensayos preliminares realizados con los serotipos O157:H7 y O91:H21 LAA-positiva, indican que ambos colonizan el intestino bovino, mientras que cada uno genera alteraciones histopatológicas *ex vivo con* características propias.

O4 CARACTERIZACIÓN DEL PLÁSMIDO PO157 EN *ESCHERICHIA COLI* O157:H7: ASPECTOS MOLECULARES Y BIOLÓGICOS

SMITH L^{1*}, RIVIERE NA¹, CASSABONE C¹, LARZABAL M¹, RAMOS R², CATALDI A¹, MARQUES DA SILVA W¹.

1 Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) - INTA. (Dr. Nicolás Repetto y Los Reseros, S/N, Buenos Aires, Argentina). 2. Universidade Federal do Parra. smith.libia@inta.gob.ar

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 es un patógeno Gram-negativo que provoca el síndrome urémico hemolítico (SUH), principalmente en niños menores de 5 años, siendo Argentina uno de los países más afectados. El plásmido pO157, de aproximadamente 96 kb y que contiene 92 ORFs, está presente en estas bacterias, pero aún no se comprende completamente su papel en la fisiopatología. El objetivo es estudiar ciertos genes sobreexpresados en cepas hipervirulentas y analizar cómo el plásmido pO157 afecta la resistencia al estrés de *E. coli* O157:H7. Para ello, primeramente se utilizó la predicción *in silico* de la localización subcelular de algunas proteínas (StcE, YijP y p0097) mediante programas como CELLO v.2.5 y SignalP v4.0. Para confirmar sus ubicaciones de forma *in vitro*, se procedió a clonarlos en el vector de expresión pRSET-b en *E. coli* BL21 y la obtención de anticuerpos con los cuales se puede verificar la localización subcelular. Además, se evaluó la expresión génica de estos genes en diferentes fases de crecimiento y se analizaron cepas Cu-pO157 (versión curada) para determinar el impacto del pO157 en la resistencia a sales biliares, cambios de pH y estrés osmótico. Así, se predijo que StcE se encuentra extracelularmente, mientras que YijP está en la intermembrana y p0097 en el citoplasma. En paralelo, se observó que YijP muestra una mayor expresión al inicio de la fase estacionaria. Por otro lado, se evidenció que la ausencia de pO157 no afectó significativamente el crecimiento de las cepas bajo estrés osmótico, a diferencia de las condiciones de pH ácido o sales biliares. Por último, concluimos que el plásmido pO157 puede afectar de manera específica algunas cepas y actuar de forma diferente en otras, mostrando la alta variabilidad inducida por su presencia. Estos hallazgos, junto con los resultados finales de los genes estudiados, podrían ser crucial para comprender el papel del pO157 en la adaptación de *E. coli* O157:H7.

12.00 h. Conclusiones a cargo de las Coordinadoras de la Mesa

12.10 h. Almuerzo

13.00 h: mesa redonda

EPIDEMIOLOGÍA Y GENÓMICA DE STEC

COORDINADORES

**Alejandra Krüger, Facultad de Ciencias Veterinarias, CIVETAN-UNCPBA
Wanderson Marques da Silva, IABIMO INTA-CONICET**

DISERTANTES

ARIEL FERNANDO AMADIO

***Instituto de Investigaciones de la Cadena Láctea (IDICAL, INTA-CONICET). Rafaela,
Santa Fe. Universidad Nacional de Rafaela (UNRaf), Rafaela, Santa Fe.
amadio.ariel@inta.gob.ar***

**METODOLOGÍAS PARA LA SECUENCIACIÓN COMPLETA Y ANÁLISIS DE GENOMAS
COMPLETOS DE STEC**

Las tecnologías de secuenciación masiva han transformado la microbiología al permitir el análisis rápido y exhaustivo de genomas completos de bacterias. Estas herramientas, como la secuenciación de nueva generación (NGS, por *Next Generation Sequencing*) y, más específicamente, las denominadas de tercera generación (que producen lecturas significativamente más largas), ofrecen una precisión sin precedentes y una capacidad de análisis de genomas completos a gran escala. Las mismas, proporcionan una visión detallada de la diversidad genética dentro de poblaciones bacterianas, permitiendo la identificación de genes relevantes para características fenotípicas importantes como la virulencia y la resistencia a los antibióticos. Esto es fundamental para entender la evolución bacteriana y para el desarrollo de estrategias de tratamiento más efectivas. Además, estas tecnologías facilitan el estudio de la dinámica de las poblaciones bacterianas en diferentes entornos, como la respuesta a cambios ambientales o su evolución durante brotes específicos. Gracias a estas tecnologías, se ha logrado en los últimos años una comprensión mucho más amplia sobre la epidemiología de enfermedades bacterianas, en este caso de STEC, y su utilización permite diseñar intervenciones preventivas y de control más precisas. En la presente, se hace un repaso por las metodologías actuales de secuenciación de genomas completos, sus requerimientos, posibilidades y limitaciones. Una comprensión profunda de cómo funciona cada una de estas es fundamental para seleccionar, de las diferentes opciones disponibles, cuál producirán los resultados buscados y cómo deben analizarse. Así, se muestran resultados obtenidos por tecnologías de Illumina, PacBio y Oxford Nanopore para diferentes patógenos bacterianos, especialmente STEC, indicando puntos fuertes y débiles de cada una de ellas. Además, cómo un análisis comparativo de genomas que actualmente es posible analizar abre nuevas posibilidades para la descripción de la patogénesis, epidemiología y tratamiento.

CYNTHIA MAIZTEGUI

Servicio Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires.

cmaiztegui@anlis.gob.ar

EPIDEMIOLOGÍA GENÓMICA EN LAS INFECCIONES POR STEC

En Argentina, el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) lleva a cabo la vigilancia epidemiológica de STEC asociado a síndrome urémico hemolítico y a diarrea aguda con y sin sangre. El LNR ha incorporado a su algoritmo de diagnóstico y vigilancia, la secuenciación de genoma completo (SGC), lo que ha resultado en una mejora de gran impacto ya que permite la caracterización completa del patógeno en menor tiempo y aporta información importante a la vigilancia epidemiológica. En términos de vigilancia basada en el laboratorio, la herramienta gold standard era la electroforesis de campo pulsado (PFGE) la cual se basa en la comparación de patrones de restricción de ADN. Actualmente se utiliza SGC siguiendo las estrategias basadas en el análisis de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y en el enfoque gen por gen de tipificación de secuencia multilocus extendida del pangenoma o core-genoma (wg-MLST/cg-MLST). El objetivo como LNR, es demostrar los aportes de la SGC a la vigilancia molecular describiendo las distintas herramientas disponibles. Durante el período 2021-2022 se analizaron por SGC, 325 cepas STEC aisladas de 1508 muestras fecales humanas estudiadas en el LNR. Se utilizó el programa roary (3.12.0) para la comparación del pangenoma del total de las cepas STEC, entre las cuales estaban incluidos los serotipos O157:H7 (176), O145:H28 (87), O26:H11 (16) y O121:H19 (13), entre otros. De esta forma,

se evidenció la diversidad de las cepas y su distribución según serotipo. Se estudiaron los patrones obtenidos por PFGE de 296/325 cepas con el programa Bionumerics (5.6). Además, se analizaron los dos serotipos más prevalentes mediante SNPs con el programa Snippy (4.6.0). Para ello, se seleccionó una cepa de referencia local representativa de la población en estudio. Estas mismas cepas se estudiaron por wg-MLST con el programa Bionumerics (7.6). Los resultados obtenidos por estas dos metodologías se compararon y mostraron muy buena correlación. Durante el período de estudio en el LNR, en 7/24 brotes se pudo recuperar STEC de los casos y de los contactos asociados. En el estudio de la relación clonal por la diferencia de SNPs, se pudo confirmar que en 6/7 brotes las cepas presentaban <5 SNPs de diferencia entre ellas, por lo que pudieron ser consideradas genéticamente parte de un mismo evento. Esto estuvo en concordancia con la diferencia de alelos (< a 5) obtenida mediante wgMLST. Por PFGE se obtuvo el mismo patrón de restricción de las cepas de 5/6 brotes. La discordancia observada con el PFGE puede deberse a la subjetividad del operador a la hora de interpretar los resultados obtenidos, siendo una desventaja de esta metodología. Por lo tanto, es fundamental para el LNR como responsable de la vigilancia de infecciones por STEC, utilizar las herramientas más apropiadas para poder conocer el potencial patogénico y la dinámica de la población circulante de nuestro país. Esto permite a su vez delinear nuevas estrategias de prevención y control de futuras infecciones por este patógeno.

JULIANA GONZÁLEZ

Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología (FCV-UNCPBA), Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-UNCPBA)

julianag@vet.unicen.edu.ar

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE SUBTIPOS DE VTEC O157:H7 AISLADOS DE RESERVORIOS, ALIMENTOS Y CASOS CLÍNICOS

Escherichia coli verotoxigénico (VTEC) O157:H7 es el serotipo mayormente involucrado en los casos de enfermedad en el mundo, y en Argentina, también el más frecuentemente asociado al síndrome urémico hemolítico (SUH). Sin embargo, no todos los aislamientos de O157:H7 tienen la misma capacidad de infectar y de causar enfermedad. Desde el Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología de la Facultad de Cs. Veterinarias (UNCPBA) hemos planteado como uno de nuestros objetivos caracterizar la diversidad genética de VTEC O157:H7 de distintos orígenes, e identificar subtipos asociados a patogenicidad y virulencia. Para ello, se emplean distintos métodos de subtipificación molecular y se analiza la presencia de genes relacionados con virulencia. En un estudio, caracterizamos 43 aislamientos VTEC O157:H7 obtenidos de ganado bovino, seres humanos y alimentos de la región pampeana de Argentina. El 98% de ellos pertenecieron al linaje I/II. El 100% presentó el alelo del SNP (8_ *rhsA*) relacionado al clado 8, uno de los identificados como más virulentos. Un alto porcentaje de aislamientos presentó en alelo *tir* 255 T>A T, asociado también a hipervirulencia, y fue asignado al filogrupo E. Según el MLVA se encontró una amplia diversidad genética. Demostramos que las cepas de la región pampeana de Argentina son un grupo filogenéticamente homogéneo que presenta diversidad genética en relación a sus perfiles MLVA y de genes *nle* (efectores no codificados en LEE). La pertenencia de los aislamientos al clado hipervirulento 8 y al linaje I/II, la alta prevalencia del alelo *tir* 255 T>A T y de genes de factores putativos de virulencia, permitió asignar a la mayoría de las cepas O157:H7 de esta región un alto riesgo para la salud pública y explican, en parte, porqué Argentina es el país con la incidencia más alta de SUH en el mundo. En otro trabajo, comparamos la diversidad genética de 76 cepas VTEC O157:H7 aisladas de casos de SUH

de Argentina y Chile. Nuevamente observamos la circulación casi exclusiva de aislamientos pertenecientes al linaje I/II, asociado a cepas hipervirulentas, y al filogrupo E. Se han postulado una serie de características relacionadas con la alta incidencia o gravedad de las infecciones por VTEC O157, como la pertenencia al linaje I/II y la presencia del supuesto factor de virulencia ECSP_3286. Sin embargo, estos no fueron suficientes para diferenciar las cepas argentinas y chilenas en este estudio. El único marcador que se distribuyó de manera significativamente diferente fue ECSP_2687, el cual codifica una proteína que reduce la expresión de citoquinas. Los métodos de subtipificación molecular nos permitieron ampliar el conocimiento sobre la estructura poblacional e identificar características de virulencia presentes en las cepas estudiadas, generando datos útiles para la evolución de este grupo.

POSTERS

P1 NUEVO ALGORITMO, PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE STEC O157:H7 UTILIZANDO LA PLATAFORMA MALDI-TOF MS

MANFREDI E¹, ROCCA MF¹, DANZE D², GENTILUOMO J¹, MILIWEBSKY E¹
¹INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. ² ReNaEM, Buenos Aires Argentina.
emanfredi@anlis.gob.ar

Recientemente, la tecnología de espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) utiliza el análisis de picos biomarcadores (PB) para discriminar especies estrechamente relacionadas. Para la detección rápida de STEC O157:H7 ya se han definido PB utilizando los equipos Microflex LT (Bruker Daltonics). Sin embargo, para MS existe otra plataforma: VITEK MS PRIME (VMSP, Biomerieux) que podría ser utilizada para ese fin. El objetivo de este trabajo fue evaluar en el equipo VMSP, el desempeño del algoritmo anteriormente desarrollado para la detección STEC O157:H7 con MF-Bruker Daltonics. Se utilizaron espectros de PB obtenidos de cepas previamente caracterizadas: STEC O157:H7 (n=86), *E.coli* de diferentes patotipos: EPEC (n=13), ETEC (n=10), EIEC (n=6), EAEC (n=13), O157 no toxigénicas (n=9) y STEC no-O157 de diferentes serotipos (n=26), y 15 cepas de *Shigella* spp: *flexneri1*, *flexneri2*, *flexneri6*, *dysenteriae1*, *dysenteriae2*, *boydii* y *sonneii*. Se utilizó la biblioteca IVD para corroborar la identificación y la base de datos RUO para la búsqueda de PB ya previamente definidos para la detección de STEC O157:H7 utilizando Bruker (3017m/z, 3083m/z, 3595m/z, 3770m/z, 4012m/z, 4939m/z, 5238m/z 6037m/z, 6169m/z, 9060m/z). A partir de una colonia bacteriana, se realizó la búsqueda de esos PB. La presencia de esos picos, de baja intensidad (<2000000) en otras *E. coli* no permitió aplicar el mismo algoritmo. Paralelamente para la detección de STEC O157:H7 con VMSP se hallaron PB entre 10163-10168 m/z y 5234-5238 m/z, además de la presencia de tres o más PB definidos para Bruker El resto de *E.coli* / *Shigella* presentaron PB entre 10137-10142 m/z, 5229-5232 m/z y presencia de 9060 m/z y generalmente menos de dos de los otros PB. Con las diferencias halladas en los espectros obtenidos al utilizar diferentes softwares, se desarrolló un nuevo algoritmo para VSMP, con el que se logró identificar STEC O157:H7 en el 99% de los aislados.

P2 EVALUACIÓN DE CURVAS DE CRECIMIENTO DE CEPAS STEC EN CONDICIONES QUE SE ASEMEJAN AL TUBO INTESTINAL BOVINO Y HUMANO

CAETANO A¹, MUÑOZ C¹, BERASAIN P², VÁZQUEZ S¹, VARELA G¹

¹ Unidad Académica de Bacteriología y Virología-Instituto de Higiene-Facultad de Medicina (Udelar)-Montevideo, Uruguay. ² Unidad de Biología Parasitaria-Instituto de Higiene-Facultad de Ciencias. Montevideo, Uruguay. acaetano@higiene.edu.uy

Las cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (STEC), son exógenas y se transmiten por vía fecal-oral. En los seres humanos producen patología de severidad variable, desde diarrea leve a cuadros graves como el síndrome urémico hemolítico (SUH). No hay tratamiento específico para la infección por STEC, sin embargo, se están desarrollando nuevas estrategias de control basadas en resultados de ensayos proteómicos. Proteínas de STEC podrían actuar como inmunomoduladores durante las infecciones, lo cual las convierte en blancos para el desarrollo de vacunas. En esta propuesta, enmarcada en un proyecto de proteómica intracelular de STEC de diferentes orígenes, cultivadas en condiciones diversas el objetivo fue determinar dos momentos del desarrollo, mitad de fase exponencial y comienzo de la estacionaria. Se realizaron curvas de crecimiento por absorbancia a 600nm de 6 cepas STEC y K12 como control, en 5 condiciones diferentes: aerobiosis con agitación, anaerobiosis (sola, extracto fecal bovino estéril, extracto fecal humano estéril y extracto fecal humano estéril más concentración subinhibitoria de azitromicina). De las curvas, se calcularon las pendientes y tiempos de mitad fase exponencial y comienzo de fase estacionaria. Los resultados arrojaron que en condiciones aerobias las pendientes calculadas estaban comprendidas entre 0,232 y 0,303, los tiempos de mitad de fase exponencial rondaron desde 1h a 1,45h y fase estacionaria 3h a 4h. En las condiciones anaerobias las pendientes fueron desde 0,090 a 0,353, los tiempos de mitad fase exponencial fueron mayormente de 30min a 45min y de fase estacionaria de 2h. Estos resultados mostraron que, en condiciones anaerobias todas las cepas alcanzaron la mitad de la fase exponencial y comienzo de la estacionaria en menor tiempo. Debemos completar el estudio analizando los cambios que pudieran ocurrir en el perfil proteómico en estas condiciones y momentos e identificar proteínas de STEC de interés para utilizar en su control.

P3 DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE PACIENTES EN RIESGO DE DESARROLLAR SUH A PARTIR DE LA DETECCIÓN DE MVS-STX2

GÓMEZ F^{1,2}, PORPORATO M³, SACERDOTI F^{1,2}, GIRÓN REYES D^{1,2}, PASCUALE C⁴, LOMBARDO T⁵, LUZ D⁶, FONTES PIAZZA RM⁶, IBARRA C^{1,2} ALCONCHER L⁷, AMARAL MM^{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). 3 Hospital Prof. Dr. Alejandro Posadas, Unidad de Nefrología, Buenos Aires, Argentina. 4 Fundación Instituto Leloir, Buenos Aires, Argentina. 5 Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), Buenos Aires, Argentina. 6 Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil. 7 Servicio de Nefrología Infantil, Hospital Interzonal Dr. José Penna Bahía Blanca Buenos Aires, Argentina. GomezFernandoD@gmail.com

En Argentina, el síndrome urémico hemolítico (SUH) causado por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (Stx) (STEC-SUH) es una de las causas más comunes de injuria renal aguda en niños. Stx circula libre o unida principalmente a células sanguíneas y microvesículas (MVs), que se fueron detectadas en la circulación de pacientes con STEC-SUH. Previamente,

nosotros identificamos Stx2 en MVs (MV-Stx2) en dos pacientes con STEC-SUH. Nuestro objetivo fue confirmar la presencia de MVs-Stx2 en muestras de sangre de 21 pacientes pediátricos, con STEC-SUH, 6 de ellos del Hospital Interzonal José Penna (Bahía Blanca) y 15 del Hospital Nacional Alejandro Posadas (El Palomar). Las muestras se ultracentrifugaron secuencialmente para obtener una suspensión enriquecida en MVs. Luego, las MVs se identificaron con Anexina V-FITC y las MV-Stx2 con un anticuerpo monoclonal anti-Stx2 y un anticuerpo secundario conjugado con Alexa Fluor 647. Luego, se analizaron por citometría de flujo y los resultados se expresaron en %MV-Stx2. También, a partir de 15 controles sanos de la misma edad se estableció un punto de corte para MVs-Stx2 positivas (\bar{X} : 1,39 % + 2DS: 1,28 % = 2,7%). Los datos de las historias clínicas de los pacientes indicaron que, al día de la hospitalización, 3 de ellos presentaban diarrea acuosa, 5 diarrea mucosanguinolenta y 1 de ellos no exhibía diarrea. Los análisis de PCR para *stx2* fueron positivos en 11 pacientes. Además, se detectaron anticuerpos anti-LPS: O145 IgG en 2 pacientes, O145 IgM/IgG en 4, O157 IgG en 1 y O157 IgM e IgG en 2. Los valores obtenidos de MVs-Stx2 fueron desde 3% hasta 32,5% (\bar{X} : 12,7 ± % vs controles: 1,39 ± 0,64 %, $p < 0,05$). Por lo tanto, la detección temprana de MVs-Stx2 en la circulación de pacientes infectados con STEC podría contribuir a la identificación rápida de pacientes con alto riesgo de desarrollar SUH.

P4 DESEMPEÑO DEL FILMARRAY® EN EL DIAGNÓSTICO DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA (STEC)

MASSA R, GENTILUOMO J, DEZA N, SCHESI C, MAIZTEGUI C, BASCHKIER A, BRET A, MANFREDI E, CARBONARI CC, MILIWEBSKY E.

Servicio Fisiopatología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires. rmassa@anlis.gob.ar

Las infecciones por STEC requieren de un diagnóstico oportuno y precoz. La metodología automatizada del FilmArray® permite en 75 minutos detectar 22 patógenos gastrointestinales (FA-GI®) en materia fecal (MF). El algoritmo de diagnóstico (AD-STEC) del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) implica el enriquecimiento de materia fecal, cultivo en placa, dos PCRs múltiples en tiempo real (mPCR-RT) y análisis de resultados conjuntamente con los obtenidos por detección de anticuerpos anti lipopolisacárido, más los datos de origen del caso. El objetivo de este trabajo fue evaluar los resultados obtenidos por FA-GI® vs los obtenidos con el AD-STEC. Se analizaron 88 MF de casos con sospecha de infección por STEC, 72 de ellas con desarrollo bacteriano en los cultivos de donde el DNA fue extraído por ebullición en Tritón 1% en buffer TE y 16 muestras sin desarrollo bacteriano. Se procesaron todas las muestras por FilmArray® y por mPCRs-RT en aquellas donde hubo desarrollo bacteriano. Los porcentajes de concordancia positiva del FA-GI® vs AD-STEC para las 72 muestras con desarrollo bacteriano fueron 50%, 69% y 64% para *stx1*, *rfbO157* y *stx2* respectivamente, mientras que los porcentajes de concordancia negativa fueron 100%, 96% y 90% para *stx1*, *rfbO157* y *stx2* respectivamente. Entre las muestras sin desarrollo 9/16 se procesaron por FA-GI, siendo 3 de ellas positivas. Entre los 7 casos restantes, que resultaron negativos por FA-GI®, el diagnóstico fue positivo por el AD-STEC del LNR. Los resultados obtenidos indican que FA-GI® es de gran utilidad para dar un resultado en forma rápida y oportuna, principalmente en aquellos casos donde la muestra no presente desarrollo bacteriano. Sin embargo, para un diagnóstico sensible de infección por STEC, no solo es importante enriquecer la muestra, si no también analizar los resultados evaluando otros criterios diagnósticos más los datos del laboratorio de origen.

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.

P8 EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOFILM EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA PROVENIENTES DE BOVINOS DE TIERRA DEL FUEGO

CURCIO M¹, SANIN M¹, BATTAGLIA F¹, BONINO MP^{1,2}, BLANCO CRIVELLI X¹, BENTANCOR A¹

**¹ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología. Instituto de Investigaciones en Epidemiología Veterinaria. ² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
michaelcurcio@yahoo.com**

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es identificado como la principal causa de síndrome urémico hemolítico (SUH), con alta casuística en la región sur de Argentina. El objetivo de este estudio fue determinar la producción de biofilm y la expresión de fimbria curli y producción de celulosa en 9 cepas STEC obtenidas de bovinos en Tierra del Fuego. Se realizó ensayo cuantitativo en placas de 96 pocillos. Cada cepa fue cultivada en caldo Luria Bertani (LB) a 37°C ON con agitación, seguido por dilución y siembra en LB con cloruro de sodio, e incubación a 37°C 24h. Posteriormente se retiró el medio, se añadió LB con glucosa y se incubó por 24h. Las microplacas se lavaron, fijaron y tiñeron, y se realizó la lectura de la absorbancia a 570 nm. Los resultados se corrigieron con el blanco y se estableció un punto de corte basado en 3 desviaciones estándar por encima de la media de las mediciones de un control negativo. La expresión de fimbria curli y producción de celulosa se evaluó mediante la técnica de Rojo Congo (RC), sembrando las cepas en agar RC e incubándolas a 37°C y 21°C durante 48h.

Sólo una de las nueve cepas demostró ser fuerte formadora de biofilm en el ensayo cuantitativo. Además, esta cepa produjo colonias rda (rojas, secas y rugosas) a 37°C, indicando la expresión de fimbria curli y producción de celulosa, mientras que a 21°C produjo colonias sar (rosadas y lisas), expresando únicamente la fimbria curli.

La caracterización del biofilm en cepas STEC resulta de importancia debido a su posible implicancia en la adherencia a sustratos y su persistencia en la cadena de producción, con importantes implicaciones epidemiológicas para el SUH en la región. Este conocimiento es fundamental para desarrollar estrategias efectivas de prevención y control de la enfermedad.

P9 SUPERVIVENCIA Y PROLIFERACIÓN DE STEC Y *ESCHERICHIA COLI* SPP. EN AGUA DE UNA LAGUNA PAMPEANA UTILIZADA CON FINES RECREATIVOS

VIALE AR¹, NUOZZI G^{1,2}, HERNÁNDEZ DEL PINO RE^{2,3}, QUIROGA MP¹, LOBATO V^{1,4}, CHINEN I⁵, MILIWEBSKY ES⁵, SCHIAFFINO MR^{1,2}

¹ Departamento de Ciencias Básicas y Experimentales, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA). ² Centro de Investigaciones de Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (CITNOBA) - UNNOBA-UNSA-CONICET. ³ Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas (CIBA) – UNNOBA. ⁴ Dirección de Actividades Pesqueras y Acuicultura del Ministerio de Desarrollo Agrario. ⁵ Servicio Fisiopatogenia, Departamento de Bacteriología. INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. arviale@comunidad.unnoba.edu.ar

La presencia de bacterias alóctonas representa uno de los contaminantes biológicos más importantes de los sistemas acuáticos. Tiene una estrecha relación con los indicadores de contaminación fecal y la existencia de centros urbanos. Los indicadores microbiológicos frecuentemente utilizados en evaluaciones de calidad del agua corresponden a bacterias coliformes fecales como *Escherichia coli*. Se ha reportado que algunas cepas de *E. coli* pueden sobrevivir durante largos periodos y reproducirse en distintas matrices ambientales, como suelos, aguas y sedimentos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la supervivencia y potencial proliferación de *E. coli* spp. y *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC) en agua de una laguna pampeana (El Carpincho, Junín, Buenos Aires) utilizada con fines recreativos (deportes acuáticos). Se evaluó una cepa de *E. coli* no patógena (NP) y una cepa patógena STEC (*stx1/stx2*) (P), previamente aisladas de cuerpos acuáticos de la región pampeana. Ambas fueron cultivadas por triplicado en agua de la laguna (previamente filtrada y autoclavada) y en medio LB como control positivo de crecimiento. Las muestras se mantuvieron con agitación, oscuridad, intercambio de oxígeno con la atmósfera y temperatura controlada ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$). Se determinó la abundancia en UFC/ml de ambas cepas en placas Petrifilm™ a distintos intervalos de tiempo durante 133 días (T0-T1-T2-T5-T8-T13-T20-T26-T30-T42-T68-T84-T103-T133). Los resultados revelaron que la cepa P sobrevivió entre 84 y 103 días en agua de laguna mientras que la cepa NP mostró una supervivencia de hasta 133 días. Asimismo, se observó una proliferación, con picos de abundancia en T1 para NP y en T8 para P. Estos hallazgos destacan la capacidad de las cepas de *E. coli* y fundamentalmente STEC para sobrevivir y reproducirse en entornos acuáticos. La persistencia de STEC en estos ambientes destaca la necesidad de monitorear y controlar la presencia de estas cepas patógenas cuando se utilizan indicadores de contaminación fecal.

P10 HES, ¿REPRESENTA APORTES EN EL DIAGNÓSTICO DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA?

VÉLEZ MV^{1,2}, COLELLO R^{1,2}, ETCHEVERRÍA AI^{1,2}, VIDAL R³, PADOLA NL^{1,2}

**1 Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA),
Facultad Ciencias Veterinarias, CISAPA, Tandil, Buenos Aires, Argentina.**

2 CIVETAN UNCPBA-CICPBA-CONICET, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

3 Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. mvictoriavelez@vet.unicen.edu.ar

El mecanismo de colonización de todas las cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (STEC) no está dilucidado. Se ha descripto una isla de patogenicidad, Locus de adherencia y autoagregación (LAA), que codifica genes (como el gen *hes*) que participan en la adhesión y autoagregación. *hes* fue detectado en STEC aisladas de casos de enfermedad. El objetivo fue estudiar en *Escherichia coli* HB101pVB1_ *hes*, la capacidad de adherencia y formación de biofilm, la expresión de *hes* en distintas condiciones y la neutralización de la adherencia celular con sueros bovinos.

Se utilizó como control a *Escherichia coli* HB101. La adherencia celular en líneas HEp-2, se evaluó mediante el recuento de UFC. Para estudiar la neutralización por los sueros bovinos, se agregó 100µl de suero a pocillos que contenían cada cepa y se evaluó la cantidad de bacterias adheridas. El ensayo de biofilm se realizó en placas de poliestireno de 96 pocillos. Se analizó mediante qPCR la expresión de *hes* en la adherencia celular entre cepas adheridas - no adheridas, y antes - después de formar biofilm

Escherichia coli HB101pVB1_hes mostró un incremento de adherencia a HEp-2 y una fuerte formación de biofilm comparada con *Escherichia coli* HB101 ($p < 0.05$). Los niveles de expresión de *hes* fueron más altos en las cepas adheridas que en las no adheridas y en la formación de biofilm. Se observó que el suero bovino mostró alta capacidad para neutralizar a *hes* ($p = < 0.05$).

Esto confirma la participación de Hes en adherencia y autoagregación. La seroneutralización demuestra que el bovino tiene anticuerpos contra Hes, que impiden la adherencia a HEp-2, indicando que Hes tiene funciones en la unión al epitelio bovino. *hes* podría ser utilizado como un marcador de cepas LEE-negativas y sumarse al esquema de detección para el diagnóstico.

P11 VIGILANCIA DE STEC EN EL MARCO DE DEC: BROTES POR STEC y EPEC EN UN JARDÍN MATERNAL DE GENERAL PICO, LA PAMPA

GENTILUOMO J¹, CARBONARI CC¹, MAIZTEGUI C¹, MASSA R¹, SILVEYRA I², BAELO L², DEZA N¹, SCHEZI C¹, BASCHKIER A¹, MANFREDI E¹, MILIWEBSKY E¹.

**¹ Servicio Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires. ² Laboratorio de Microbiología. Establecimiento Asistencial Gobernador Centeno, General Pico, La Pampa. Argentina.
jpgentiluomo@gmail.com**

El Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) para síndrome urémico hemolítico (SUH) y otras infecciones por *Escherichia coli* diarreigénico (DEC) recibe muestras y aislamientos de diferentes centros del país para la vigilancia de estos patógenos. El objetivo de este trabajo es describir por epidemiología molecular, un brote asociado a la infección por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) y otro por *E. coli* enteropatógeno (EPEC) ocurrido en un jardín maternal (JM) de General Pico, La Pampa, durante noviembre-diciembre del 2023. A comienzos de noviembre, el Laboratorio del Hospital Gobernador Centeno detectó por PCR los genes *stx2/rfbO157* en tres diarreas sanguinolentas (DS): Una niña que evolucionó a SUH, su hermana gemela y otra niña que concurría al mismo JM. A fin de ese mes, en la misma institución, se denunció la ocurrencia de 7 niños con diarrea. Siguiendo el flujograma de derivación, las muestras de materia fecal se enviaron al LNR, donde se continuó con el algoritmo de diagnóstico, aislamiento y caracterización de DEC y posterior secuenciación del genoma completo y análisis bioinformático de las secuencias. Las 3 muestras de DS resultaron positivas para STEC O157:H7 *stx2a/stx2c/eae/ehxA* y 6/7 muestras de D para EPEC (*eae*): O101:H33 (n=2), O186:H19 (n=1), O66:H21 (n=1) y O49:H10 (n=1) y una para *E. coli* enteroagregativo (O21:H2). Mediante el estudio de las diferencias de polimorfismo de nucleótido único (SNPs) se determinó que los aislamientos O157:H7 fueron parte del mismo evento ("cluster" de fuente común) ya que presentaron sólo 1 SNP de diferencia. Con respecto a los EPEC O101:H33 también se pudo establecer la relación clonal con 7 SNPs de diferencia, indicando una gran similitud genética entre ellos. La vigilancia activa de STEC/DEC es fundamental para llegar al diagnóstico en forma oportuna y frente a la ocurrencia de un brote, tomar las medidas necesarias para controlar la transmisión.

P12 ¿SON LOS RÍOS DE LA CUENCA SALÍ-DULCE UN RESERVORIO NATURAL DE GENES DE *ESCHERICHIA COLI* DIARREIGÉNICAS ?

MORENO MOCHI MP¹, VARGAS JM¹, MICALE L¹, LÓPEZ C¹, JURE MA¹.

**1 Cátedra de Bacteriología. Instituto de Microbiología Luis C. Verna. Fac. de Bioqca,
Qca y Fcia. Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán.
magejure@gmail.com**

El crecimiento de la población, la industrialización y el cambio climático, ejercen una continua presión sobre calidad/cantidad de recursos hídricos. *Escherichia coli* diarreigénicas (DEC) comprende un grupo de patotipos que pueden ser transmitidos por el agua, su vigilancia en aguas ambientales es esencial. En el noroeste argentino se destaca la cuenca endorreica Salí-Dulce, en la que se vierten grandes cantidades de materia orgánica de ingenios y citricolas. Nuestro objetivo fue conocer el rol de acuíferos receptores de residuos de la actividad humana, como reservorio de *E.coli* diarreigénicas. Durante agosto de 2021, se tomaron muestras de agua de río en 34 puntos estratégicos de la cuenca Salí-Dulce en colaboración con la secretaría de medio ambiente de Tucumán. Se determinaron parámetros físico químicos: temperatura, pH, conductividad, turbidez, sólidos y oxígeno disuelto, entre otros. Las muestras se procesaron por el método de filtración. Los filtros se sembraron en placas de agar TBX a partir de las cuales se cuantificaron coliformes totales/*E.coli* y se realizó el screening para la detección de genes de diferentes patotipos de DEC. Se realizaron tres PCR múltiples: *stx1/stx2/rfbO157*; *eae/lt/stp/sth*; *aggR/lipaH*. Los valores de recuento oscilaron entre 5 a 106 UFC/100ml, para los microorganismos indicadores evaluados. La detección de genes de virulencia, resultó positiva en 12/34 (35.3%) muestras, sin aislamiento. Se encontraron 4 patrones genéticos, *rfbO157/eae* (33.3%), *rfbO157/eae/aggR* (16.7%), *eae/aggR* (16.7%), *rfbO157* (16.7%) y *rfbO157/stx2* (8.3%), *eae* (8.3%). No se observó una correlación directa entre parámetros físico químicos fuera de rango/recuentos elevados de microorganismos indicadores/presencia de genes asociados a los patotipos estudiados. Estos resultados preliminares demuestran que los ríos de la cuenca Salí-Dulce constituyen un importante reservorio de genes de *E.coli* diarreigénicas y plantean la necesidad de efectivizar el monitoreo de STEC/DEC en aguas de la región NOA por períodos más extendidos, aplicando análisis estadísticos para consolidar la información recabada.

P13 ANÁLISIS GENÓMICO DE PLÁSMIDOS PO157 EN *ESCHERICHIA COLI* O157:H7: EXPLORANDO LA VARIABILIDAD

**SMITH L^{1*}, FARACE PD¹, RIVIERE N¹, CASABONNE C¹, LARZABAL M¹, CATALDI A¹,
MARQUES DA SILVA W¹.**

**¹ Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) - INTA, Buenos Aires,
(Dr. Nicolás Repetto y Los Reseros, S/N, Buenos Aires, Argentina).
smith.libia@inta.gob.ar**

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 es un patógeno Gram-negativo que causa el síndrome urémico hemolítico (SUH) en humanos a nivel mundial. Su patogénesis involucra elementos genéticamente móviles (EGM) como profagos, islas genómicas y plásmidos; destacando el plásmido pO157 que contiene genes relacionados con la virulencia de este patógeno. Estudios han demostrado que este plásmido se encuentra con frecuencia en cepas de *E. coli* O157:H7 y que los EGM son responsables de la variabilidad genética entre las diferentes cepas de *E. coli* O157:H7. Se analizaron plásmidos pO157 de diferentes cepas de *E. coli* O157:H7 para contribuir al conocimiento sobre dicha variabilidad genética. Los resultados del análisis del pan-genoma de 150 plásmidos pO157 revelaron un pan-genoma de 145 genes. En cuanto a la predicción funcional de los genes en el genoma core,

la mayoría correspondió a genes con funciones desconocidas, seguidos por genes relacionados con la secreción de proteínas por el sistema de secreción tipo II y transposasas, entre otros. En relación con el genoma accesorio, la mayoría eran genes que codifican transposasas y factores de transcripción seguido por genes con funciones desconocidas. La presencia de genes de virulencia como *hlyA*, *stcE*, *espP* y *katP* en todas las cepas estudiadas resalta la importancia de estos factores en la patogenicidad de *E. coli* O157:H7. Sin embargo, la variabilidad en la presencia de genes como *toxB* en el genoma accesorio podría indicar adaptaciones específicas de ciertas cepas a diferentes ambientes. El análisis filogenético muestra que la variabilidad genética no sigue patrones geográficos o de hospederos, lo que sugiere una evolución independiente de las cepas. Nuestros resultados presentados hasta el momento muestran que a pesar de que el plásmido pO157 está presente en cepas de *E. coli* O157:H7, presenta una variabilidad genética que podría influir en la virulencia y patogenicidad de estas cepas.

P14 PREVALENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* SHIGATOXIGÉNICO EN BOVINOS PRODUCTORES DE CARNE. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA DE ARTÍCULOS PUBLICADOS ENTRE 2010 Y 2022

GRACIANO L^{1,2,*}, CERFOGLIO B¹, BENTANCOR A^{2,3}, CUNDON C^{2,3}, DEGREGORIO O^{1,2}.

¹ Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Salud Pública. Buenos Aires, Argentina. ² Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Epidemiología Veterinaria. Buenos Aires, Argentina. ³ Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Microbiología. Buenos Aires, Argentina. igraciano@fvet.uba.ar

El estudio de la epidemiología de *Escherichia coli* Shigatoxigénico (STEC) en bovinos ha brindado información acerca de las distintas variables asociadas a la producción que contribuyen al desarrollo del patógeno en animales. El objetivo de la revisión sistemática fue analizar la prevalencia de STEC en bovinos de carne a nivel mundial, comparando las características de los sistemas productivos. La pregunta científica fue confeccionada en formato PICO, siendo bovinos la población en estudio, los sistemas de producción de carne la intervención y las muestras positivas a STEC O157 y no-O157 los resultados. Los repositorios bibliográficos utilizados fueron PubMed, ScienceDirect, Scielo, Redalyc y el Sistema Nacional de Repositorios Digitales. La revisión sistemática fue llevada a cabo por dos revisoras, quienes utilizaron una lista de comprobación que incluía criterios de inclusión y exclusión. Este proceso se dividió en tres fases: identificación, análisis e inclusión. Durante la primera etapa de identificación se examinaron 1647 artículos, 1302 fueron excluidos por el título y 243 por el resumen, quedando incluidos 102 artículos. Durante la etapa de análisis fueron excluidos un total de 80 artículos, siendo el 26,3% descartados por no detallar en sus resultados los datos necesarios para analizar la prevalencia de STEC o debido a que sólo se publicó la cantidad de aislamientos obtenidos. Luego de la fase de identificación y análisis, se incluyeron 22 artículos. Dentro de estos, se observa una amplia variabilidad en los valores de prevalencia de STEC, que oscilan desde 1,4% hasta 70% para STEC O157 y del 3,3% hasta 85,8% para STEC no-O157. Es importante destacar que los estudios con resultados en producciones intensivas se concentran en Estados Unidos, lo que podría generar dificultades para realizar comparaciones entre diferentes sistemas de producción. Para analizar la situación epidemiológica de STEC es necesario continuar desarrollando el meta-análisis de los artículos seleccionados.

P15 IDENTIFICACIÓN DE LA ISLA DE PATOGENICIDAD LAA EN CEPAS STEC AISLADAS EN ARGENTINA DURANTE 2018-2023

**MAIZTEGUI C¹, GENTILUOMO J¹, BRET A¹, MASSA R¹, DEZA N¹, SCHEZI C¹,
BASCHKIER A¹, MANFREDI E¹, CARBONARI CC¹, MILIWEBSKY E¹.**

¹ Servicio Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Buenos Aires. cmaiztegui@anlis.gob.ar

Las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) se presentan con una alta incidencia en nuestro país. En su mayoría las cepas se caracterizan por codificar el locus LEE (*locus of enterocyte effacement*), causante de la lesión A/E (*attaching/effacing*) en el epitelio intestinal. Sin embargo, formando parte de las cepas LEE-negativas existe un grupo que presenta la isla de patogenicidad denominada Locus de Adhesión y Autoagregación (LAA). El objetivo de este trabajo fue identificar LAA en cepas LEE-negativas aisladas durante el período 2018-2023 en el marco de la vigilancia nacional y analizar el potencial patogénico de estas cepas. De un total de cepas STEC de origen humano (n=1066) aisladas de casos con diagnóstico de síndrome urémico hemolítico (SUH), diarrea aguda con (DAS) y sin sangre (DA), contactos asintomáticos (CA) y de alimentos (n=81), se seleccionaron las cepas LEE-negativas (n=47; 4,1% del total) para el estudio de LAA. Se realizó la secuenciación de genoma para la caracterización completa y búsqueda de genes asociados a LAA. Catorce (29,8%; 14/47) cepas presentaron los 4 módulos de LAA y otras 21 poseían algún módulo. Las cepas LAA+ estuvieron asociadas a SUH (28,6%), DAS (14,3%), DA (14,3%), alimentos (28,6%) y contactos (14,3%). El serotipo mayoritario fue O113:H21 (21,4%) con el siguiente perfil de virulencia: *stx2a* (100%), *ehxA* (57,1%), *fimH* (100%), *iha* (92,9%), *lpfA* (100%), *subA* (42,9%) y *yehA-D* (100%). Del análisis del conjunto del *core genome* surgió que estarían frecuentemente relacionadas (25 polimorfismos de un sólo nucleótido, SNPs), a pesar de no poseer vínculo geográfico ni epidemiológico. Esto indicaría que se trata de cepas conservadas, distribuidas a lo largo de nuestro país. Teniendo en cuenta que 4 aislamientos fueron recuperados de pacientes con SUH, suponemos que las cepas LAA+ poseen un potencial patogénico que se requiere estudiar en mayor profundidad.

P16 RED PULSENET AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE: ALGORITMO DE VIGILANCIA GENÓMICA DE *ESCHERICHIA COLI*

**MAIZTEGUI C¹, BRET A¹, GENTILUOMO J¹, POKLEPOVICH T², WEILER N³, DUARTE F⁴,
ÁGUILA SÁNCHEZ A⁵, CHINEN I⁶, CARBONARI CC¹.**

¹ Servicio de Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) - ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Buenos Aires, Argentina. ² Unidad Operativa Centro Nacional de Genómica y Bioinformática (UOCNGB) - ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Buenos Aires, Argentina. ³ Laboratorio Central de Salud Pública, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Asunción, Paraguay. ⁴ Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), San José, Costa Rica. ⁵ Instituto Pedro Kourí, La Habana, Cuba. ⁶ Unidad de Gestión de amenazas infecciosas - PHE/OPS/OMS.

Los países de la Región participan activamente en la vigilancia de patógenos transmitidos por alimentos a través de la Red Regional PulseNet América Latina y el Caribe. La Secuenciación

de Genoma Completo para *E. coli* se está aplicando en diferentes países para salud pública y monitoreo de alimentos, incluyendo la investigación de brotes, el seguimiento y caracterización de las cepas, la vigilancia global y trazabilidad. Para dar una respuesta certera se consideraron dos estrategias para el análisis de brotes: polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y el enfoque gen por gen, de tipificación de secuencia multilocus extendida del pangenoma o core-genoma (wg-MLST/cg-MLST). El objetivo de este trabajo fue comparar los resultados obtenidos por dos de las estrategias propuestas. Para ello en el marco de un proyecto regional se seleccionaron 54 cepas *E.coli* productor de toxina Shiga (STEC) O157:H7: 39 de Argentina, 2 de Costa Rica, 6 de Cuba y de 7 Paraguay. Las cepas previamente secuenciadas de STEC O157:H7 fueron analizadas mediante SNPs, utilizando el programa Snippy y el wg-MLST utilizando Bionumerics (v5.6). Se realizó la comparación de los resultados de ambas metodologías con el programa Tanlegram, para establecer una correspondencia entre *clusters* y ramas de los árboles. Además, se aplicó el índice de Fowlkes-Mallows para determinar la similitud entre los *clusters* generados utilizando las matrices obtenidas por Snippy y Bionumerics respectivamente. Las gráficas se representan en espejo y se observó gran similitud en la distribución de las ramas y clusters. Se obtuvieron los siguientes resultados: Índice de Fowlkes-Mallows=1, Esperanza=0,8465 y Varianza=0,0004. Esto indicaría que ambas metodologías arrojan resultados similares para hablar de relación clonal y se podrían utilizar de forma indistinta o complementaria. La aplicación de las herramientas correctas es fundamental para la construcción de nuevas estrategias regionales específicas que hacen a la vigilancia regional y global.

P35 LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA: VIGILANCIA DE LAS INFECCIONES POR STEC, ARGENTINA. 2022-2023

CARBONARI CC, MAIZTEGUI C, MASSA R, DEZA N, SCHESI C, GENTILUOMO J, BASCHKIER A, MANFREDI E, BRET A, CHINEN I, MILIWEBSKY E
Servicio Fisiopatogenia. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires. ccarbonari@anlis.gob.ar

En Argentina, existe un sistema laboratorial que contribuye al sistema de vigilancia de las infecciones por STEC en casos de diarrea aguda con (DAS) y sin sangre (DA), y SUH. El Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) implementa un flujograma de diagnóstico (FDD) de STEC aplicando como criterios diagnósticos: identificación del patógeno, detección de anticuerpos a-LPS O157, O145, O121, O103 por Glyco iELISA y detección de los genes *stx1*, *stx2* y *rfbO157* (PCR RT y punto final); y la identificación por MALDI-TOF. Este FDD se completa con la secuenciación de genoma completo (SGC) de los aislamientos y análisis bioinformático de las secuencias, para la caracterización (pangenoma; genes de virulencia y resistencia) y vigilancia genómica (monitoreo y análisis de brotes). El objetivo de este trabajo es describir las infecciones por STEC en el marco de la vigilancia nacional durante el periodo 2022-2023. Se confirmó la infección por STEC en el 409/504 (81,2%), 211/577 (36,6%) y 98/304 (32,2%) de casos de SUH, DAS y DA, respectivamente. Respecto al SUH la detección de STEC por RT-PCR (38%) y Ac a-LPS (43%) mejoró el diagnóstico. Con la secuenciación se logró caracterizar el 100% de los aislamientos (n=314), siendo O157:H7*stx2a/stx2c/eae/exhA* (54%) y O145:H28*stx2a/stx2c/eae/exhA* (26%) los perfiles más frecuentes. En las cepas O157 ST11/7816 y O145 ST32 se identificaron genes del sistema de secreción tipo III (*espA/espB/tir*), *tccP*, no codificados en LEE (*nleA/nleB/nleC*) y de resistencia (*aadA*, *drfA*, *sul2*, *tetA*, *blaTEM*); entre otros. Se estudiaron 24 brotes familiares,

uno institucional y uno de la comunidad. Por el estudio de SNPs-coregenome se estableció que el 3,74% de las cepas O157:H7 y 1,16% de O145 podrían estar ocasionalmente relacionadas. La implementación de una estrategia adecuada para la mejora diagnóstica es fundamental para brindar respuestas oportunas, que permitan definir estrategias terapéuticas y comprender la situación epidemiológica del país.

15.00 h. Presentaciones orales

O5 ESTUDIO GENÓMICO COMPARATIVO DE STEC EN LA NATURALEZA Y EN HOSPEDEROS ANIMALES Y HUMANOS EN URUGUAY

FIGUEROA Y ¹, STOLETNIY C ¹, GIMENEZ P ¹, VÁZQUEZ S ², CAETANO A ², VARELA G ², IRIARTE A ³, ZUNINO P ¹, PICCINI C ¹, UMPIÉRREZ A ¹

¹ Departamento de Microbiología. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Avenida Italia 3318. Montevideo, Uruguay. ² Unidad Académica de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Udelar. Contacto Av Alfredo Navarro 3051.

**Montevideo, Uruguay. ³ Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, Udelar. Av Alfredo Navarro 3051. Montevideo, Uruguay.
yfigueroa89@gmail.com**

Escherichia coli productora de toxina Shiga (STEC) es un patógeno zoonótico. Los rumiantes, animales silvestres y sistemas acuáticos son los principales reservorios. Uruguay presenta alta incidencia de infección humana causando diarrea sanguinolenta (DS) y síndrome urémico hemolítico (SUH). Se han descrito una variedad de factores vinculados con la virulencia, supervivencia y persistencia en ambiente y hospederos. Aunque la transmisión suele ocurrir por alimentos y agua contaminada, podrían existir otros reservorios naturales como medio de transmisión. El objetivo fue identificar rasgos genómicos y fenotípicos que faciliten la adaptación de STEC al entorno natural y detectar si estas características promueven infección en animales y humanos. Se compararon genomas y fenotipos de aislamientos de STEC (1 de feca de chanco-jabalí de monte nativo, 1 de mortalidad de ternero, 1 de alimento cárnico) con STEC de infecciones humanas. La secuenciación se realizó con Illumina. Los análisis bioinformáticos incluyeron genes de virulencia, secuenciotipo (ST), serotipo, resistoma y filogenia. Además se estudió la producción de biofilms, hemolisinas y resistencia al ácido. Los genomas ensamblados y anotados estudiados presentaron genes de virulencia y fenotipo comparables con STEC humanas. En chanco-jabalí y alimento cárnico se detectó ST11 (O157:H7), principal serotipo asociado a SUH, sin presencia de genes de resistencia antibiótica. En ternero se detectó ST10948 (O119:H11) y genes comparables a la resistencia antibiótica observada fenotípicamente. La filogenia evidenció que ST11 (O157:H7) de chanco-jabalí y alimento cárnico, se agruparon con un aislamiento ST11 (O157:H7) aislado de orina humana sin SUH, mientras que ST10948 (O119:H11) del ternero se agrupó con aislamientos ST21 (O26:H11) humanos con DS. Los atributos genéticos y fenotípicos hallados en STEC le permitirían tanto persistir como excretarse de animales, adaptarse a suelos y cursos hídricos, sobrevivir en alimentos y causar enfermedades. La perspectiva "Una Salud" es fundamental para abordar esta problemática.

O6 IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS EFECTORES ASOCIADOS AL SISTEMA DE SECRECIÓN DE TIPO VI EN *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICA O157:H7

**RIVIERE N^{1*}, SMITH L¹, CASSABONE C¹, MARQUES DA SILVA W¹, CATALDI A¹,
JINLONG BEI², LARZÁBAL M¹**

¹ Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO)-INTA-CONICET (Dr. Nicolás Repetto y Los Reseros, S/N, Buenos Aires, Argentina) ² Agricultural Biological Gene Research Center, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, China. riviere.nahuel@inta.gob.ar

E. coli enterohemorrágica (EHEC) es un patógeno zoonótico que pertenece al grupo de *E. coli* productores de toxina Shiga (STEC) capaz de causar diarrea severa y síndrome urémico hemolítico (SUH) en humanos. El serotipo O157:H7 es responsable de los cuadros más severos de la infección generada por este patógeno. Estudios epidemiológicos han demostrado que Argentina es el país con mayor incidencia de SUH. Este patógeno aloja un sistema de secreción de tipo VI (SST6) que puede incrementar su virulencia y supervivencia mediante la translocación de factores de virulencia, conocidos como efectores. En esta investigación, se exploró la cepa EHEC O157:H7 EDL933 para caracterizar su SST6 y los efectores asociados. Mediante análisis bioinformático del genoma bacteriano, se identificó una copia completa del SST6-2. Este sistema se vinculó con la supervivencia de la bacteria en macrófagos murinos, confirmado mediante edición génica CRISPR/Cas9 del SST6-2, demostrando su relevancia en la supervivencia bacteriana. Para entender el mecanismo de supervivencia bacteriana en macrófagos, se realizó un análisis de RNA-seq a las 2 horas post-infección y bajo condiciones de estrés extremo simulando fagosomas tardíos. Aunque los genes estructurales del SST6-2 no mostraron cambios significativos en su expresión diferencial, se identificaron 96 potenciales efectores del SST6-2, con el 50% sobreexpresados bajo estas condiciones. Basándose en predicciones bioinformáticas y consideraciones sobre su función y virulencia, se seleccionaron 6 candidatos a efectores del SST6-2. Estos candidatos podrían desempeñar roles críticos en la detoxificación de especies reactivas de nitrógeno y en funciones metabólicas que podrían aumentar la virulencia y adaptación de EHEC. En conclusión, este estudio resalta la importancia del SST6-2 en la patogenicidad de EHEC.

07 GENÓMICA COMPARATIVA ENTRE AISLAMIENTOS DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 PROVENIENTES DE ARGENTINA

**BROVEGLIO FM¹, AMARAL MM¹, LARZABAL M², SACERDOTI F¹, RIVIERE N², CHINEN
I³, CARBONARI C⁶, MILIWEBSKY E⁶, AGUIAR S⁴, RAMOS R⁴, ABURJAILE F⁵,
AZEVEDO V⁵, CATALDI A², MARQUES DA SILVA W²**

¹ Laboratorio de Fisiopatogenia, Departamento de Fisiología, Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay-CONICET), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. ² Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO-INTA/CONICET). ³ Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS). ⁴ Universidad Federal do Pará, Brasil. ⁵ Universidad Federal de Minas Gerais, Brasil. ⁶ Servicio Fisiopatogenia, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) - Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) 'Dr Carlos G. Malbrán', Buenos Aires, Argentina

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) O157:H7 puede ser responsable de diferentes cuadros de diarrea y síndrome urémico hemolítico. La gravedad de la enfermedad generada por este patógeno podría deberse a la infección causada por cepas de STEC O157:H7 con distinto grado de virulencia. Estas diferencias son dependientes de genotipos específicos de cada cepa. El objetivo de este estudio es comprender las bases genómicas y la variabilidad genética de este patógeno mediante secuenciación del genoma completo de cepas argentinas de *E. coli* O157:H7. Se analizaron las secuencias de 59 cepas: 42 aislamientos bovinos y 17 de origen humano. Se determinó la relación clonal de las cepas según core SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). El porcentaje de identidad de nucleótidos entre ellas, reveló un resultado del 99%. Según el análisis por MLST, el 76% de las cepas pertenecen al ST-11 y 24% al ST-7816. Respecto al análisis pangénomico se obtuvo la predicción de 4.323 genes pertenecientes al core genoma y 3.286 genes accesorios. El análisis de factores de virulencia demostró que todas las cepas son *eae*, *ehxA*, *stcE*, y *espP* positivas. El 93%, 63% y 82% de las cepas son positivas para *ospB*, *astA* y *fdeC*, respectivamente. Mediante PCR se subtipificó los alelos de la toxina Shiga, donde el 44% son *stx_{2c}*, 25% *stx1a/stx2c*, 20% *stx_{2a}*, 8% *stx2a/stx2c* y 1% *stx1a*. En cuanto a la predicción *in silico* de genes de resistencia a antimicrobianos, 28% presentan genes de resistencia a penams, 17% a macrólidos, 14% a tetraciclina, 14% a fluoroquinolona, 10% a aminoglicosidasas, 7% a sulfonamidas, 3% monobactamas, 3% a cefalosporina y 3% a diaminopirimidinas. Estos resultados muestran una parte importante de la variabilidad genética existente entre estos aislamientos de Argentina y estudios de mayor profundidad son necesarios para entender más sobre la dinámica de este patógeno.

O8 EL SISTEMA DE TOXINAS TIPO II EN *ESCHERICHIA COLI*: UN ANÁLISIS CUALITATIVO EN STEC

MALUHY RM¹, GOMES TAT², SILVA RM², GUTH BEC², ELIAS WP¹, PIAZZA RMF¹, HENRIQUE C¹.

¹Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil. ²Disciplina de Microbiologia, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP, Brasil. rodrigo.maluhy@gmail.com

Los sistemas toxina-antitoxina (TA) son módulos genéticos ampliamente distribuidos en procariontes y arqueas. En *Escherichia coli*, los sistemas del tipo II han sido extensamente estudiados y desempeñan un rol en la diseminación y virulencia bacteriana. Por consiguiente, comprender el funcionamiento del sistema TA tipo II es esencial para dilucidar su impacto en la fisiología y patogénesis de diversos patotipos de *E. coli*. El objetivo de este estudio fue investigar la prevalencia de dos sistemas TA tipo II mediante el análisis de las secuencias génicas de las toxinas: *hipA*, *mazF*, *yoeB*, *chpB*, *yafO*, *yafQ*, *relE* y *mqsR*. Se empleó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Este proceso se llevó a cabo utilizando cebadores diseñados específicamente a partir de las secuencias de las toxinas correspondientes a los ocho sistemas TA presentes en la cepa de *E. coli* MG1655. Se examinaron un total de 97 cepas de *E. coli* patógenas, de las cuales 67 pertenecían al grupo de las *E. coli* productoras de toxina Shiga (STEC), observando así, que existen diferentes distribuciones genéticas entre los distintos patotipos de *E. coli*. Para las cepas de STEC, se detectaron las siguientes prevalencias: *mazF* (92,54%); *chpB* y *yoeB* (79,10%); *hipA* (70,15%); *mqsR* (65,67%); *yafQ* (58,21%); *relE* (43,28%) y *yafO* (41,79%). Esos porcentajes

evidencian que el gen *mazF* es el más frecuente, seguido por los genes *chpB* y *yoeB*. En comparación con otros patotipos, las cepas de STEC presentan proporcionalmente una menor presencia del gen *yafO*, alcanzando únicamente un 43,28%, en contraste con el 90% de frecuencia observado en otros patotipos. Estos hallazgos proporcionan información importante sobre la distribución y prevalencia de algunos de los principales sistemas TA tipo II en diversos patotipos de *E. coli*. Estos resultados permitirán análisis sobre el posible papel de dos sistemas TA en la patogénesis de estas bacterias.

16.00 h. Conclusiones a cargo de los Coordinadores de la Mesa

16.10 h. Intervalo

16.30 h. Conferencia plenaria

MANEJO ACTUAL DEL SUH-STEC

MARTA ADRAGNA

**Servicio de Nefrología, Diálisis y Trasplante Renal. Hospital Nacional de Pediatría
"Prof. Dr. Juan P. Garrahan"**

Es bien conocida la importancia del síndrome urémico hemolítico (SUH) en nuestro país. Históricamente, desde su descripción en la década del 60, ha constituido la segunda causa de enfermedad renal crónica que requiere terapia de reemplazo renal en Pediatría en nuestro medio, luego de las malformaciones renales y de las vías urinarias. "Un número significativo de ellos presentaron evidencia de daño renal prolongado y en algunos de ellos la enfermedad es progresiva", con estas palabras, ya desde las primeras publicaciones de Giannantonio y cols., estos autores describían las secuelas de la enfermedad. Al inicio de los 80's, con la aparición de la teoría de Brenner sobre la hiperfiltración luego de la pérdida de masa renal, se comienza a asociar dicho fenómeno con la evolución del SUH a largo plazo. Si buscamos en la bibliografía argentina, en 1990 ya se comprobó este mecanismo demostrando la menor reserva funcional renal en niños con SUH expuestos a una sobrecarga proteica y en 1996, su comprobación anátomo- patológica: la lesión denominada "esclerosis focal y segmentaria". A partir de allí, se han realizado exitosas intervenciones para enlentecer la progresión de la enfermedad renal secundaria al SUH, desde las medidas dietéticas al uso de fármacos antiproteinúricos como los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina II, o los bloqueantes de los receptores de ésta última. En la actualidad, siguen surgiendo drogas que se alinean con esta misión renoprotectora, aunque todavía no utilizadas en niños, como los inhibidores del cotransportador de sodio y glucosa tipo 2 (i-SLGT2). Por otro lado, en los últimos años, se ha vuelto la mirada hacia el manejo de la etapa aguda. Por un lado, demostrando que la temprana intervención con una hidratación más agresiva, mejora el curso de la enfermedad. Por otro, nuevas estrategias se desarrollaron para disminuir, por ejemplo, la toxicidad renal y posterior fibrosis relacionada al ácido úrico, como el uso de rasburicase, una enzima recombinante urato-oxidasa, que cataliza la oxidación enzimática del ácido úrico a alantoina, un producto hidrosoluble e inocuo, que se excreta fácilmente por vía renal. Sin dudas, ha sido la detección y tratamiento precoz de la etapa aguda y sobre todo, el seguimiento prolongado, a largo plazo, hasta la edad adulta, utilizando medidas nefroprotectoras, lo que ha logrado que los pacientes que presentaron SUH puedan posponer o incluso evitar la necesidad de terapias de reemplazo renal como la diálisis y el trasplante. Recientemente, el análisis de una larga cohorte de pacientes pediátricos trasplantados

renales cuya etiología de enfermedad renal crónica fue SUH, mostró que esta enfermedad ha dejado de ser la segunda causa en los últimos años de trasplante renal, siendo superada por la esclerosis focal y segmentaria primaria. Pasaron de ser el 17% en el período 1988-1995 a 3% en el correspondiente entre 2016-2021. Estos resultados prometedores, son los que nos impulsan a reevaluar, corregir e intervenir en el curso clínico agudo y a largo plazo de esta enfermedad.

DÍA 2: 17 DE MAYO

08.00 h: mesa redonda

THE LATIN AMERICAN COALITION FOR *ESCHERICHIA COLI* RESEARCH (LACER)

COORDINADORAS

**Nora Lía Padola, Facultad de Ciencias Veterinarias, CIVETAN-UNCPBA
Flavia Sacerdoti, IFIBIO-CONICET, Facultad de Medicina, UBA**

DISERTANTES

MAURICIO J. FARFÁN

**Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil Oriente, CICA Hospital Dr. Luis Calvo
Mackenna, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile
mfarfan@uchile.cl**

**MICROBIOTA-METABOLOMA INTESTINAL ASOCIADO A INFECCIONES POR STEC:
PAPEL DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE CADENA CORTA**

Diarrheogenic *E. coli* (DEC) virulence is regulated by the gut microbiota and its metabolites. Short-chain fatty acids (SCFAs) are the main metabolic product of anaerobic fermentation in the gut, but their role in diarrhea caused by Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC) is unclear. We determined the levels of SCFA, the metabolome and the gut microbiota in stool samples from children with diarrhea caused by DEC. Also, we evaluate the role of a childrens DEC-associated gut microbiota on the expression of virulence genes of this pathotype. Stool samples from 40 children with diarrhea and 43 healthy children were analyzed. 16S rRNA gene sequencing, shotgun metagenomics, HPLC and LC-MS were used to identify the microbiota composition, metagenome-assembled genomes (MAGs), SCFA levels and the metabolome, respectively. We evaluated the expression of the virulence genes using an Artificial COLon (ARCOL) model. A significantly higher levels of all SCFAs tested was found in diarrheal samples than controls. In a sub-analysis of STEC-positive samples compared to age-paired samples from healthy children, we found similar differences. A significantly different metabolome composition was also noted between groups. Using the ARCOL we found that the environment generated with diarrheal samples favors the expression of STEC virulence genes. We identified 63 MAGs; STEC-positive diarrheal samples compared to healthy samples were positively associated with the presence of non-pathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*), *Megamonas funiformis* (*M. funiformis*), *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, and *Limosilactobacillus mucosae*. The results showed higher levels of SCFA were associated with STEC-positive diarrhea compared to healthy stools. Correlations were found between bacterial species in the gut microbiota and their SCFA production. Altogether, our data increase our knowledge of STEC pathogenicity and the crosstalk between the microbiota and this enteropathogen.

ROBERTO M. VIDAL

**Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia. Universidad de Chile, Santiago,
Chile**

rvidal@uchile.cl

**EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE UN PROTOTIPO DE VACUNA CONTRA
STEC BASADA EN PROTEÍNAS QUIMÉRICAS EN VACAS Y CERDAS GESTANTES**

Las cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (STEC) representan un importante riesgo para la salud pública por su capacidad para causar enfermedades graves en humanos. Aunque los rumiantes son el principal reservorio de STEC, los cerdos también juegan un papel en su epidemiología. Un subgrupo de STEC que produce la toxina Shiga tipo 2e (Stx2e) causa la enfermedad del edema (ED) en lechones recién nacidos, lo que afecta la producción porcina. Nuestra vacuna candidata, dirigida contra STEC, incluye proteínas quiméricas que exponen epítomos seleccionados de las proteínas Cah, OmpT y Hes, la que ha demostrado ser inmunogénica y protectora en modelo ratón. En estudios recientes realizados en colaboración en la Argentina, hemos demostrado que es inmunogénica y segura al ser aplicada en vacas y cerdas gestantes y en ambos casos hemos visto la transferencia de inmunidad a sus crías. La vacuna provocó un aumento significativo de anticuerpos específicos en las vacas y cerdas y demostró la transferencia pasiva de inmunidad a los terneros y lechones, proporcionándoles protección temporal contra STEC. La diversidad de serotipos de STEC en bovinos y en cerdos sugiere que la vacuna podría dirigirse a una amplia gama de cepas. Estos hallazgos respaldan la vacunación materna como una estrategia para proteger a las crías de ambas especies, disminuyendo la colonización temprana. En lechones protegería además de la ED. En ambos casos el foco es reducir la prevalencia de STEC, lo que a su vez podría disminuir el riesgo de transmisión a humanos. Sin embargo, se necesita más investigación para evaluar la eficacia a largo plazo de esta vacuna y su impacto en la colonización y excreción de STEC durante el proceso productivo, con el fin de reducir la prevalencia de STEC en animales y prevenir brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos.

ANA UMPIERREZ

**Departamento de Microbiología, Departamento de Microbiología. Instituto de
Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay
aumpierrez@iibce.edu.uy**

**CIRCULACIÓN DE STEC NO-O157 Y O157:H7 EN URUGUAY: PREVALENCIA EN
TERNEROS DE LECHERÍA Y SU PRESENCIA EN EL AMBIENTE**

Las infecciones por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) en seres humanos suelen deberse al consumo de carne poco cocida, verduras, productos lácteos y contacto con agua contaminada. Algunas infecciones también se deben al contacto con el entorno de los animales o de persona a persona. Las infecciones por STEC son endémicas en Sudamérica. Su incidencia difiere entre países a lo largo del continente, representando casi el 2% de los casos de diarrea aguda y el 20%-30% de diarreas sanguinolentas. Los casos de síndrome urémico hemolítico son esporádicos en Uruguay. Se estiman al menos 10-15 casos/año, con una incidencia de 0,5/100.000 habitantes y 4-5/100.000 niños menores de 5 años. La producción de carne, leche y derivados en Uruguay se destina al consumo interno y la exportación, siendo una de las actividades agropecuarias más relevantes. Esta actividad está

asociada a la intensificación de los sistemas productivos, lo que puede tener un impacto en la transmisión de las enfermedades infecciosas. Los trabajos en nuestro laboratorio han determinado que circulan STEC no-O157 entre terneros de lechería, principalmente los serogrupos O111 y O103, con una prevalencia baja respecto de otros virotipos. La mayoría se clasifican como B1, E y A, y portan las variantes Stx1a, Stx1c, Stx2e y Stx2a de toxina Shiga, además de ser todos STEC LEE+ (*eae*+). En cuanto a la resistencia a los antibióticos la Ampicilina es la más frecuente, lo que concuerda con que los β -lactámicos son los antibióticos más utilizados en animales, seguido de resistencia a Ciprofloxacina, Gentamicina y Fosfomicina. Referente a la Fosfomicina, detectamos por primera vez el gen *fosA7* en animales de producción en nuestro país. Un escenario diferente sucede con STEC en muerte neonatal de terneros, cuya tasa en Uruguay es una de las más altas de América, particularmente asociada a diarrea y neumonía. En un estudio realizado en terneros neonatos muertos por diarrea, la prevalencia de STEC *stx1+/eae+/ehxA+* fue significativamente mayor que en los vivos, observándose además un elevado porcentaje de STEC multirresistentes (MDR) y genes de resistencia transferibles a quinolonas (*qnrB*). La MDR en STEC podría reflejar el uso generalizado de antimicrobianos para tratar enfermedades infecciosas, especialmente en terneros con alto riesgo de muerte. El mismo estudio reafirmó la circulación de STEC O103 y O111, y los subtipos Stx1a y Stx1c. Proponemos entonces que las STEC LEE + podrían ser causa de muerte de los terneros, y su detección indicaría un mal pronóstico. También la alta prevalencia de MDR y los genes *qnr* evidencian la necesidad de tomar medidas para minimizar la aparición de resistencias entre animales y la propagación al medio ambiente. En el marco de un estudio de genómica comparativa actualmente trabajamos con STEC aisladas de terneros, alimentos, agua de arroyo y de animales silvestres. Planeamos comprender las bases genéticas y poblacionales de STEC, y sus patrones de dispersión. Sobre la base de dicho proyecto contamos con los primeros aislamientos STEC LEE- en agua y STEC O157:H7 en jabalí de zonas serranas, donde hay presencia humana y bovinos de producción extensiva.

MARTA DOMINGOS

Instituto Butantan, San Pablo, Brasil

marta.domingos@butantan.gov.br

FK-1000 COMO TERAPIA PROMETEDORA CONTRA STEC: PERSPECTIVAS A PARTIR DE UNA EXPERIENCIA PILOTO

Los antibióticos no se recomiendan como tratamiento contra la infección por STEC, ya que pueden aumentar la liberación de toxina Shiga por parte del patógeno. En consecuencia, varios grupos han estado intentando encontrar nuevas moléculas que puedan ser utilizadas como tratamiento alternativo contra STEC. Como parte de este esfuerzo, se determinó el efecto de una fracción antimicrobiana llamada FK-1000 sobre STEC. Los resultados demostraron que incluso después de 7 años de almacenamiento en forma liofilizada y acuosa, de manera dosis dependiente, la fracción FK-1000 mostró un efecto bactericida contra STEC. Los resultados obtenidos mediante la técnica de ELISA también mostraron que, la fracción FK-1000 fue capaz de inhibir la liberación de toxinas Shiga por parte del patógeno. En resumen, nuestros hallazgos indican que la fracción FK-1000 tiene el potencial de ser utilizada como tratamiento alternativo contra STEC.

09.30 h. MESA REDONDA: PATOGENIA DE SUH Y RESPUESTA DEL HOSPEDADOR

COORDINADORAS

**Marina S. Palermo, IMEX-CONICET, Academia Nacional de Medicina
María Marta Amaral, IFIBIO CONICET, Facultad de Medicina, UBA.**

DISERTANTES

ANALÍA S. TREVANI

**Laboratorio de inmunidad innata, Instituto de Medicina Experimental (IMEX) –
CONICET - Academia Nacional de Medicina. Departamento de Microbiología,
Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires,
Buenos Aires, Argentina
atrevani@fmed.uba.ar**

REGULACIÓN DE LA CAPACIDAD PROINFLAMATORIA DEL NEUTRÓFILO EN RESPUESTA AL DESAFÍO CON *ESCHERICHIA COLI* O157:H7.

Las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) pueden causar patologías de severidad variada, desde diarreas autolimitadas hasta una condición sistémica potencialmente mortal que es el síndrome urémico hemolítico. La infección es consecuencia de la ingesta de carne, frutas, verduras, leche sin pasteurizar o aguas contaminadas por STEC. La bacteria coloniza el intestino, donde libera toxina Shiga (Stx) y otros factores de virulencia, lo que desencadena una respuesta inflamatoria que puede facilitar la translocación de la Stx a la circulación, y con ello, el desarrollo de la enfermedad sistémica. La interleuquina-1 β (IL-1 β) es un mediador altamente proinflamatorio. Los neutrófilos son fagocitos profesionales que son ampliamente reclutados a la mucosa intestinal tras la infección por STEC. Trabajando con neutrófilos humanos aislados de sangre periférica de individuos sanos, recientemente determinamos que estas células podrían contribuir al desarrollo de la respuesta inflamatoria inducida por la STEC mediante la secreción de IL-1 β . Determinamos que STEC O157:H7 a distintas multiplicidades de infección (MDI; 0,5-50) estimuló a los neutrófilos a liberar niveles elevados de IL-1 β . Dicha secreción no dependió de la producción de toxina Shiga por la bacteria, pero pareció depender de otros componentes presentes en la STEC, dado que el desafío de neutrófilos con una cepa no patógena de *E. coli* (C600) indujo niveles notablemente inferiores de secreción de esta citoquina. La liberación de IL-1 β por neutrófilos requirió de la viabilidad bacteriana y no pudo ser emulada por sobrenadantes de cultivo de la bacteria. Ensayos adicionales indicaron que la secreción de IL-1 β en respuesta a STEC involucra la activación de la caspasa-1 mediada por el inflamasoma NLRP3 y las serinproteasas de los neutrófilos (SPN). Además, la secreción de IL-1 β fue menor frente a mayores multiplicidades de infección. Este perfil secretor modulado por la relación bacteria: neutrófilo, no fue observado con la IL-8 (CXCL8), otra citoquina producida por el neutrófilo en respuesta a STEC. Tampoco se debió a una pérdida de viabilidad de los neutrófilos a mayores MDI ni a una reducción en la síntesis de la citoquina, sino que fue consecuencia de un mecanismo regulador que reduce la secreción de IL-1 β cuanto mayores son los niveles de activación de la caspasa-1, de las SPN y la producción de especies reactivas de oxígeno dependientes de la NADPH oxidasa. Nuestros estudios también indicaron que la inhibición de las SPN reduce significativamente la secreción de IL-1 β inducida por STEC, sin modular la capacidad de los neutrófilos de eliminar a la bacteria, lo que sugiere que las NSP podrían representar dianas farmacológicas potenciales para limitar la inflamación intestinal inducida por STEC.

JORGE GOLDSTEIN

**Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. Instituto de Fisiología y Biofísica
"Bernardo Houssay" (IFIBIO Houssay) UBA-CONICET. Buenos Aires, Argentina.**

jogol@fmed.uba.ar

**MODELO EXPERIMENTAL DE ENCEFALOPATÍAS ASOCIADAS AL SUH, DESDE UNA
MIRADA MOLECULAR A CONDUCTUAL.**

La toxina Shiga (Stx) de *Escherichia coli* productora de Stx (STEC) es el factor de virulencia responsable de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH) del cual se pueden originar encefalopatías asociadas. Cuando el sistema nervioso central (SNC) está comprometido, la tasa de morbimortalidad aumenta significativamente. Al igual que otras bacterias Gram negativas, STEC también libera lipopolisacáridos (LPS). El presente trabajo propone desentrañar: (i) los efectos deletéreos de Stx2 en el SNC a través de 2 modelos experimentales murinos, de administración intravenosa (iv) y local intracerebral (ic), desde el nivel celular a comportamental, y (ii) determinar posibles agentes farmacológicos capaces de neutralizar dicha encefalopatía. Se utilizaron ratas Sprague Dawley y ratones Swiss-NIH para estudios ultraestructurales, de inmuno e histofluorescencia. Se midió el perfil de citoquinas pro-inflamatorias cerebral por técnica de Elisa y se realizó un ensayo de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico para determinar peroxidación lipídica. Se realizaron cultivos primarios microgliales ante la exposición a Stx2 en contexto de shock térmico o de LPS para determinar su rol en la inflamación. WB para determinar la ruta de señalización neural involucrada en el efecto deletéreo de Stx2. Se determinó el impacto de una dieta excedida en grasas y carbohidratos. Los estudios comportamentales incluyeron tests motores, sensoriales y cognitivos. El análisis estadístico se realizó a través ANOVA seguido de pruebas post hoc de Bonferroni utilizando el software GraphPad Prism 7 ($p < 0,05$). La administración subletal de Stx2 iv e ic mostró una alteración significativa de la unidad neurovascular en diversas zonas del encéfalo: alteración del perfil de la microvasculatura, reactividad astrocitaria y microglial, neurodegeneración y desmielinización, que correspondieron con sus áreas neuronales vinculadas a su funcionalidad neurológica motora, cognitiva y sensorial. La administración ic demostró la colocalización de Stx2 con su receptor canónico Gb3 en neuronas y por primera vez se demostró un up regulation en la expresión y en el número de neuronas que lo expresan. El perfil inflamatorio mostró una alta expresión de TNF α , INF- γ e IL-2, y peroxidación lipídica. Dichas alteraciones celulares y funcionales fueron agravadas por la presencia de LPS y/o una dieta desbalanceada. Sin embargo, se demostró que etanercept (un receptor soluble de TNF α) o dexametasona las redujeron significativamente. Por WB se observó que Stx2 produjo la activación de NF-kB independientemente de la vía de señalización ERK1/2 y LPS activó NF-kB, pero de forma dependiente. Los cultivos de células microgliales activadas incorporaron Stx2, aumentaron su metabolismo, capacidad fagocítica y perfil proinflamatorio. La captación de Stx2 se asoció con Gb3, observándose diferentes patrones de distribución de acuerdo a diferentes contextos. En vista de los resultados se demuestra que Stx2 subletal produce localmente la alteración de la unidad neurovascular que compromete la funcionalidad neurológica, y que Gb3 estaría involucrado en dicho proceso, sin descartar que la toxina actúe sistémicamente en forma secundaria. Se demuestra el alto grado proinflamatorio de la encefalopatía, siendo que los antiinflamatorios pueden ser eficientes para disminuir dicha alteración celular y funcional. El modelo traslacional murino planteado es válido para estudiar encefalopatías asociadas al SUH.

ANA P. SPIZZIRRI
Hospital de Niños Sor María Ludovica, La Plata, Buenos Aires, Argentina
anaspizzirri@hotmail.com

COMPROMISO EXTRARRENAL DEL SUH: ¿DÓNDE ENFOCARNOS ?

El síndrome urémico hemolítico (SUH) se caracteriza por anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia y compromiso renal. El compromiso de otros órganos, principalmente sistema nervioso central (SNC) y colon, puede condicionar aumento de la morbimortalidad en la etapa aguda. Por tal motivo, las manifestaciones extrarrenales han generado en los últimos años creciente interés y su conocimiento ha favorecido el diagnóstico y tratamiento oportunos. Objetivo: analizar el compromiso extrarrenal del SUH, mediante una revisión de los compromisos colónico, cardíaco, neurológico severo y oftalmológico, previamente reportados. Resultados: Evaluamos en forma retrospectiva los pacientes con colitis hemorrágica (CH) asistidos entre 1981 y 2009 (n: 54). Los criterios diagnósticos incluyeron síntomas abdominales (dolor, distensión), anormalidades en Rx o ecografía abdominal y hallazgos anatomopatológicos en aquellos pacientes intervenidos quirúrgicamente (n: 35). La mortalidad de este grupo fue 33%, y se asoció significativamente con compromiso neurológico severo y requerimiento de más de 10 días de diálisis [1]. Asimismo, analizamos retrospectivamente los pacientes con compromiso severo de SNC (≥ 3 convulsiones, estupor, coma, requerimiento de asistencia respiratoria) asistidos durante los últimos 10 años. Veintiséis pacientes fueron incluidos, 25/26 requirieron terapia de reemplazo renal y 19/26 asociaron CH. La mortalidad de este grupo fue 15% (4/26) y las secuelas renales 45% (albuminuria/caída de filtrado glomerular) [2]. El compromiso cardíaco en el SUH fue valorado en forma prospectiva durante 4 años. Se incluyeron 70 pacientes. Dentro de las 48 hs de ingreso se realizó: ECG, ecocardiograma y determinación de CPK-MB. Un tercio de los casos presentaron hallazgos anormales (7 EGC, 22 ecocardiogramas y 27 valores elevados de CPK MB). Se halló asociación estadísticamente significativa entre la severidad del compromiso cardíaco y el compromiso renal más severo, valorado como pacientes que requirieron más de 11 días de diálisis. Por último, valoramos en forma prospectiva el compromiso oftalmológico, considerando la retina como una forma de visualización del tejido neural. Fueron incluidos 99 pacientes. Trece por ciento (n:13) presentaron anormalidades del fondo de ojo dentro de las 48h del ingreso, y mostraron asociación estadísticamente significativa con la severidad de la enfermedad (compromiso neurológico y colónico), sugiriendo la utilidad de realizar fondo de ojo en todos los pacientes, principalmente en los casos de compromiso neurológico más grave. Conclusión: Se enfatiza la importancia del diagnóstico y tratamiento oportunos de las manifestaciones extrarrenales del SUH, ya que su presencia se asocia con aumento de la morbimortalidad.

10.30 h. Intervalo

11.00 h. Presentaciones orales

09. IMPLICANCIA DEL ÓXIDO NÍTRICO SOBRE EL DAÑO RENAL CAUSADO POR LA TOXINA SHIGA 2 EN RATAS PREÑADAS

FISCHER SIGEL LK¹, SÁNCHEZ DS¹, PRESTA A¹, ZOTTA E¹, SILBERSTEIN C¹.

**1. Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO-Houssay) UBA-
CONICET. Dpto. Cs Fisiológicas, Facultad de Medicina, UBA.
kfischersigel@gmail.com**

Previamente, demostramos que la toxina Shiga 2 (Stx2) causó menor daño renal, con recuperación más rápida en ratas preñadas (P) que en ratas no preñadas (NP). Se conoce que los mecanismos adaptativos durante la gestación implican el aumento de la producción de óxido nítrico (ON). El objetivo del trabajo fue estudiar la implicancia del ON endógeno en el daño renal causado por una dosis subletal de Stx2 durante la preñez. Ratas hembras Sprague-Dawley NP, y P al octavo día de gestación, fueron inyectadas intraperitonealmente con Stx2 (0,5 ng/g peso) (NPS y PS) o diluyente (Control: NPC y PC). Algunas ratas preñadas recibieron L-NAME (1 mg/ml) en el agua de bebida desde 1 día antes hasta 4 días post-inyección con Stx2 (PSL) o diluyente (PCL). A los 4 días post-inyección, se determinó la concentración sérica de ON (ONS), creatinemia, flujo urinario, osmolalidad urinaria. Se evaluó la histopatología renal y la expresión de Ki67 (marcador de proliferación) y Vimentina (marcador mesenquimal) por inmunofluorescencia. En ratas PCL y PSL la ONS disminuyó significativamente con respecto a ratas PC y PS. En ratas NPS, PS y PSL aumentó la creatinemia con respecto a ratas controles ($p < 0,05$). La necrosis tubular fue significativamente mayor en PSL y NPS que en PS. En ratas NPS y PSL aumentó el flujo urinario y disminuyó la osmolaridad urinaria con respecto a sus controles ($p < 0,05$). La expresión tubular de Ki67 y Vimentina aumentó significativamente en ratas NPS y PS, pero no en ratas PSL. En conclusión, la inhibición del ON agravó el daño renal causado por Stx2 en ratas preñadas, aproximándose al observado en NPS, e impidió la regeneración (proliferación y desdiferenciación) del epitelio tubular. La vasodilatación, producto del aumento de ON, reduciría el daño renal en las PS, el cual podría revertirse mediante la degeneración del epitelio tubular.

**O10. EFECTO DE LA INTERLEUQUINA 10 EN LA PATOGÉNESIS EJERCIDA POR STX2
EN RATONES BALB/C IL-10^{-/-}**

**SOSA FN¹, BERNAL AM¹, CARPINTERO Y¹, CANCINO C¹, FERNÁNDEZ-BRANDO RJ¹,
ALBA-SOTO CD², PALERMO MS¹, RAMOS MV¹.**

**1. Laboratorio de Patogénesis e Inmunología de Procesos Infecciosos, IMEX-
CONICET, Academia Nacional de Medicina. 2 Laboratorio de Inmunología y
Patogénesis Parasitarias, IMPaM-CONICET, Departamento de Microbiología, FMED-
UBA.**

El síndrome urémico hemolítico (SUH) es secundario a la infección con *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (Stx). Nuestros reportes previos demostraron que ratones deficientes para IL-10 (IL-10^{-/-}) muestran menor susceptibilidad a Stx2. Basándonos en estos antecedentes, el objetivo fue estudiar los efectos de Stx2 en ratones IL-10^{-/-} en un contexto de sobreexpresión de IL-10 (mediana (IQR) = 156,5(91,83-279,5) µg/mL). Ratones IL-10^{-/-} fueron inoculados con un plásmido codificante para IL-10 (PL) o vehículo mediante la técnica de inyección hidrodinámica. Luego, se les administró Stx2 (1 ng/ratón) o vehículo (ev) (grupos Basal, Stx y Stx+PL) y fueron sacrificados 72 horas post-Stx2. Los datos se expresan como mediana (IQR) (* $p < 0,05$). Se observó un aumento de urea (mg%) en los ratones con plásmido, indicando mayor daño renal (Basal (n=5): 53,80 (51,97-61,13); Stx (n=6): 118,10 (83,80-133,30); Stx+PL (n=9): 220,90 (169,10-292,50)*). Teniendo en cuenta la relevancia de

la respuesta inflamatoria mediada por neutrófilos y monocitos en el SUH, se analizaron estas poblaciones en el riñón. Mediante citometría de flujo solo se observó un aumento en el porcentaje de neutrófilos (CD11b+Ly6G+) en el grupo Stx2 (Basal (n=3): 3,54 (3,00-4,48); Stx (n=4): 23,25 (18,50-24,03)*; Stx+PL (n=6): 14,00 (11,58-18,68). Si bien el porcentaje de monocitos fue similar (Basal (n=3): 2,87 (1,50-3,36); Stx (n=4): 3,76 (3,03-4,30)*; Stx+PL (n=6): 2,93 (1,48-6,21); *p<0,05), hubo un aumento en porcentaje de monocitos clásicos (Ly6C+CD43-, proinflamatorios) (Basal (n=3): 38,20 (35,30-42,00); Stx (n=4): 49,65 (46,68-53,75); Stx+PL (n=6): 62,10 (59,75-66,08)*) y una disminución en monocitos no clásicos (Ly6C-CD43+, antiinflamatorios) en el grupo Stx+PL (Basal (n=3): 27,90 (24,30-30,10); Stx (n=4): 22,90 (19,38-25,83); Stx+PL (n=6): 10,18 (6,79-11,68)*). Estos resultados sugieren que la IL-10 revirtió la protección renal de los ratones deficientes. Este efecto se relacionó con un aumento en el porcentaje de monocitos clásicos, que debido a su perfil proinflamatorio, podrían estar exacerbando el daño de Stx2.

O11. IMPORTANCIA DEL TNF α Y LAS DIETAS EN EL DESARROLLO DE LA ENCEFALOPATÍA PRODUCIDA POR LA TOXINA SHIGA

Arenas-Mosquera D¹, Cerny N², Geoghegan PA³, Cangelosi A³, Malchiodi EL⁴, De Marzi M⁵, Pinto A¹, Goldstein J¹

¹Universidad de Buenos Aires - CONICET. Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay), Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas. Laboratorio de Neurofisiopatología. Buenos Aires, Argentina.

²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología e Instituto de Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM), UBA-CONICET. ³Centro Nacional de Control de Calidad de Biológicos (CNCCB), "ANLIS, Dr. Carlos G. Malbrán", Avenida Vélez Sarsfield 563, 1282, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. ⁴Universidad de Buenos Aires, IDEHU-CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Inmunología, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. ⁵Universidad Nacional de Luján, Departamento de Ciencias Básicas, Ruta 5 y Avenida Constitución (6700) Luján, Buenos Aires, Argentina; Universidad Nacional de Luján, Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES)-CONICET, Laboratorio de Inmunología, Ruta 5 y Avenida Constitución (6700) Luján, Buenos Aires, Argentina.

El daño neural en pacientes que desarrollaron SUH incrementa de forma significativa su morbimortalidad. Se ha reportado que parte del daño neural está determinado por mediadores inflamatorios. Se desconoce la razón por la cual no todos los pacientes desarrollan encefalopatía. Hipotetizamos que la dieta de los niños podría ser un factor determinante. El objetivo de este trabajo fue determinar si dietas altas en grasas y/o carbohidratos potencian el efecto deletéreo de Stx2; y determinar el rol del TNF α en la enfermedad. Ratones recién destetados fueron sometidos a dietas normal, alta en grasas y/o carbohidratos. Al día 20, se administró intravenosamente vehículo, o dosis no letales de LPS y/o Stx2. Luego de 4 días, los animales fueron sometidos a ensayos de comportamiento, sacrificados y las áreas motoras talámicas procesadas para inmunofluorescencias (para determinar daño neural) o ELISA (para cuantificar TNF α). Otros animales sometidos a dieta control fueron desafiados con dosis letal 100 de Stx2 o con los mismos tratamientos intravenosos descritos anteriormente y tratados con distintas dosis de Etanercept. Luego de 4 días los animales fueron sometidos a ensayos de comportamiento, sacrificados y los cerebros procesados para inmunofluorescencia o ELISA. Se evidenció un significativo daño neuronal, astrogliosis,

microgliosis, daño a la vaina de mielina, una mayor expresión de TNF α y un desempeño motor deficiente en los ratones tratados con las toxinas; siendo mayor en los ratones sometidos a dietas altas en grasa e hidratos de carbono. El Etanercept logró de forma significativa proteger 40% de los ratones desafiados con dosis letal de Stx2 y su tejido neural, mejorar el desempeño motor y reducir la expresión de TNF α . En conclusión, dietas altas en grasas y carbohidratos potencian el daño al tejido neural producido por Stx2 intravenoso y Etanercept es capaz de reducir la encefalopatía.

O12. LA COINFECCIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES INTESTINALES POR *ESCHERICHIA COLI* Enteroagregativa (EAEC) FAVORECE LA PATOGENICIDAD DE *ESCHERICHIA COLI* Enterohemorrágica (EHEC) E INDUCE UN PERFIL PROINFLAMATORIO

CARPINTERO-POLANCO Y¹, CANCINO C¹, MILIWEBSKY E², BERNAL A¹, SOSA F¹, RAMOS M¹, CHENIN I², PALERMO M¹, FERNÁNDEZ-BRANDO R¹

1 Instituto de Medicina Experimental (IMEX)-CONICET- Academia Nacional de Medicina Buenos Aires. 2.Servicio de Fisiopatología, INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán. yinacarpinterop@gmail.com

En los últimos años, el ANLIS-Malbrán ha detectado una asociación de aislamientos de EAEC con casos de SUH y diarrea sanguinolenta en niños. El objetivo de este trabajo fue evaluar si la infección por EAEC favorece el potencial patogénico de EHEC in vitro. Se empleó un modelo de coinfección con EAEC y EHEC en células Caco-2 y se estudió la adhesión bacteriana por recuento de UFC y microscopía confocal, la producción de Stx2 en células Vero y el nivel de transcripción de ccl20, il6, il1 β , tgf β por qPCR. Además, se evaluó la formación de biofilm y la agregación bacteriana. Aunque se observó una disminución de la adherencia de EHEC a Caco-2 en la coinfección simultánea con EAEC ($p < 0,005$), la preinfección con EAEC aumentó la adherencia de EHEC ($p < 0,005$). Además, EAEC indujo cambios morfológicos y desprendimiento celular en Caco-2. Asimismo, la coinfección aumentó la transcripción de il6 ($p < 0,0001$), produjo un efecto aditivo en ccl20 ($p < 0,0001$) y potenció la transcripción de il1 β ($p < 0,0001$) comparado con las monoinfecciones; y redujo la transcripción de tgf β tanto en las monoinfecciones como en la coinfección comparado con el basal ($p < 0,0005$). No se observaron diferencias en la producción de Stx2. Además, EAEC presentó la mayor capacidad de formar biofilm ($p < 0,0001$), que se perdió cuando es cocultivada con EHEC ($p < 0,0001$); y mostró mayor capacidad de agregarse que EHEC ($p < 0,05$) pero no se co-agregó con EHEC en cultivo planctónico. En conclusión, la preinfección de Caco-2 con EAEC condujo a un aumento en la adherencia de EHEC, junto con la alteración de la morfología celular y un marcado perfil de citoquinas proinflamatorias. Aunque no hubo aumento en la producción de Stx2, estos cambios contribuirían a su acceso al compartimento sistémico.

12.00 h. Conclusiones a cargo de las Coordinadoras de la Mesa

12.10 h. Almuerzo

13.15 h. Mesa redonda

PREVENCIÓN, CONTROL Y TRATAMIENTO DE STEC EN RESERVORIOS Y HUMANOS

COORDINADORAS

**Adriana Bentancor, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.
Cristina Ibarra, IFIBIO-CONICET, Facultad de Medicina, UBA.**

DISERTANTES

FLAVIA SACERDOTI

**Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO- Houssay UBA-CONICET),
Facultad de Cs. Médicas, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina
fsacerdoti@fmed.uba.ar**

CALOSTRO BOVINO HIPERINMUNE COMO ESTRATEGIA DE CONTROL DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA

El control de la circulación y de las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) pueden ser una estrategia para la prevención del síndrome urémico hemolítico (SUH). El calostro bovino hiperinmune es una intervención propuesta para el manejo de la colonización de STEC en bovinos y el tratamiento de las infecciones por STEC en humanos y otras enfermedades gastrointestinales. Estudios previos demuestran que la inmunización de vacas preñadas contra diferentes factores de virulencia de STEC (EspA, EspB, γ -intimina, y toxina Shiga tipo 2 (Stx2)) genera un calostro bovino hiperinmune (CHI) con altos niveles de IgG específicos que son transferidos al ternero lactante (Rabinovitz 2012). Además, el CHI contra Stx2 es capaz de proteger contra la citotoxicidad de Stx2 *in vitro* y la patogenicidad de STEC en modelos *in vivo*. Con el objetivo de estudiar estrategias para el uso del CHI como un bioproducto realizamos estudios de preservación de las propiedades de los CHI luego de la pasteurización y secado por aspersion (spray dry). El CHI pasteurizado a 60°C seguido del secado por aspersion con una temperatura de entrada del equipo constante de 120°C y de salida en el rango de 60 a 74 °C (CHIsec) no afectó las propiedades neutralizantes de Stx2 ni la inhibición de la patogenicidad de STEC. Siguiendo esta línea de trabajo evaluamos la estabilidad y la preservación CHIsec a diferentes temperaturas (4°C y a Temperatura ambiente (Temp Amb)) por 30, 60 y 90 días. Demostramos que CHIsec reconstituido en agua mantenía las capacidades de neutralización de Stx2 *in vitro* desde los 30 días hasta los 90 días de almacenamiento tanto a 4°C como a Temp Amb. Sin embargo, los CHIsec reconstituidos mostraron una disminución significativa en los niveles de IgG totales y lactoferrina a los 30 días de almacenamiento a ambas temperaturas de preservación y una disminución significativa en los niveles de proteínas, materia grasa y lactosa a los 90 días de almacenamiento a Temp Amb. Por ello, nos propusimos mejorar dicha estabilidad agregando un estabilizador térmico maltodextrina (MTX) o proteína de suero concentrada (PSC)) con y sin antioxidante (ácido ascórbico (Ac. Asc)). Para ello, se obtuvieron calostros control (CC, n=2) o CHI de vacas preñadas inmunizadas con Stx2 e Intimina (n=3) que se secaron con el agregado de MTX o PSC con o sin Ac. asc. La preservación de los niveles de IgG anti- Stx2 luego del almacenamiento del CHI-sec a 4°C por 30 días con los diferentes aditivos se evaluó por la técnica de ELISA y la funcionalidad de las IgG por la técnica de neutralización de Stx2 en células Vero. Los resultados preliminares demuestran que los niveles de IgG anti-Stx2 se preservaron de una manera más óptima con PSC+Ac. Asc y la neutralización con PSC. Nuestros estudios indican que el CHI contra Stx2 y otros factores de virulencia de STEC pueden controlar la colonización y patogenicidad de STEC. Además, la pasteurización y

secado del CHI lo convierte en un bioproducto de fácil manejo y conservación para su uso en el control de STEC en ganado bovino y en las infecciones por STEC en humanos.

GABRIEL BRIONES

Laboratorio de Microbiología aplicada . Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB UNSAM-CONICET), Escuela de Bio y Nanotecnología (EByN) Universidad Nacional de San Martín (UNSAM).

gbriones@iib.unsam.edu.ar

ADAPTACIÓN DE *LACTOBACILLUS* COMO CARRIER VACUNAL BIOSEGURO PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA STEC

La capa-S de *Lactobacillus* es una estructura cristalina y geométrica presente en la pared de la bacteria, conformada exclusivamente por la proteína SlpA. Esta proteína SlpA posee en su extremo carboxilo terminal el dominio responsable, denominado SLAP, de asociación al ácido teicoico presente en la pared bacteriana, que nosotros hemos adaptado con fines biotecnológicos. Así, el dominio SLAP se fusionó en fase con diferentes proteínas de interés, para expresarlas de manera recombinante y, una vez purificadas, se adicionaron a un cultivo de *Lactobacillus* para que se adhirieran espontáneamente a la pared de la bacteria, en un proceso que hemos denominado "decoración". Este proceso permitió decorar *Lactobacillus* con antígenos del patógeno intestinal *Escherichia coli* productora de Shiga toxina (STEC), así como también con moléculas inmunomoduladoras como la flagelina de *Salmonella* o con proteínas inhibitoras de proteasas intestinales como la proteína Omp19 de *Brucella abortus*. De interés, cuando ratones BALB/c fueron administrados con tres dosis orales de *Lactobacillus acidophilus* decorado con el antígeno quimérico de *E. coli* O157:H7, EITH7 (formado por EspA36-192, Intimina653-935, Tir258-361 y H7 flagelina352-374), se indujeron anticuerpos específicos contra el antígeno EITH7, los cuales fueron capaces de inhibir tanto la infección *in vitro*, bloqueando la formación de pedestales, como también de controlar la infección experimental con *E. coli* O157:H7. Sorpresivamente, cuando además del antígeno EITH7 se codecoró con la proteína quimérica flagelina-SLAP, la respuesta inmune protectora fue suprimida.

BLANCO CRIVELLI X

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Cs. Veterinarias, Cátedra de Microbiología, Instituto de Investigaciones en Epidemiología Veterinaria
xblancocrivelli@fvet.uba.ar

***BACILLUS* SPP. COMO ESTRATEGIA DE CONTROL**

Escherichia coli productora de toxina Shiga (STEC) es señalado como etiología asociada al síndrome urémico hemolítico. Los bovinos constituyen el principal reservorio de este patógeno. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar y caracterizar una cepa autóctona candidata a partir de silos y aditivos de silaje por su capacidad antagónica frente a cepas STEC. Se tomaron muestras de 7 silos de sorgo y una de aditivo comercial. Cada una se procesó mediante dilución en Caldo Tripteína Soja e incubación a 37°C por 12h en aerobiosis, anaerobiosis y microaerofilia. Luego se sembró en Agar Tripteína Soja, Agar Rogosa, Agar Bilis Esculina y Agar MacConkey y se cultivó a 37°C hasta 5d en una atmósfera similar a la del precultivo. Las cepas obtenidas fueron evaluadas según su efecto inhibitorio frente a STEC O157:H7 y O145:NM en 48h. Las cepas seleccionadas fueron identificadas. Se realizaron ensayos de inhibición simultánea con serotipos STEC de impacto en salud a 12°C,

29°C y 37°C, y a pH ácido, neutro y básico (37°C) durante 7d. Se realizaron ensayos de inocuidad en cobayos con posterior evaluación histopatológica e histomorfológica. Finalmente se determinó su compatibilidad como inoculante de silaje. Se obtuvieron 273 aislamientos (n silo: 209; n aditivo:28). A partir de los ensayos de inhibición se obtuvieron 6 cepas (S12, S32, S41, S44, S45 y S178). Las características fenotípicas observadas se correspondieron con aquellas del género *Bacillus*. Las cepas fueron identificadas como *B. amyloliquefaciens*-S12, *B. subtilis*-S32, *B. subtilis*-S41, *B. amyloliquefaciens*-S44, *B. amyloliquefaciens*-S45, *B. pumilus*-S178 mediante PCR-ytcP y MALDI-TOF. Se seleccionó como cepa candidata *B. pumilus*-S178 debido a que ejerció inhibición sobre todas en las cepas STEC a las 3 temperaturas evaluadas, con mejores efectos inhibitorios a los 3 pH evaluados y comenzó su inhibición en forma más temprana que el resto de las cepas analizadas. Al realizar el ensayo de selectividad, inclusividad y exclusividad, *B. pumilus*-S178 inhibió al 100% de las cepas STEC con las que se la enfrentó, demostrando una actividad inhibitoria alta en un 83,3% de los casos e inhibió al 100% de las cepas *E. coli* no STEC, grupo que incluyó cepas pertenecientes a patovares diarreigénicos y uropatógenos de *E. coli*. *B. pumilus*-S178 fue inocua al ser inoculada vía oral en cobayos de 14 semanas de edad a dosis constante durante 7 días consecutivos sugiriéndose un efecto protector a nivel del duodeno. La incorporación de la cepa en silajes no alteró las características físico-químicas y nutricionales de silos de sorgo. Asimismo, fue posible recuperar cepas compatibles con las cepas autóctonas inoculadas en forma vegetativa y de spora, las cuales inhibieron a la cepa EDL 933. Se concluye que *B. pumilus*-S178 podría constituir una adecuada estrategia de control de STEC pre-faena debido a su acción inhibitoria sobre cepas STEC y a su posible incorporación a silajes de sorgo.

14.15 h. Intervalo

14.30 h. Sesión de posters

P17. BASES MOLECULARES DE LA EXPRESIÓN Y PRODUCCIÓN DE Stx2a EN CEPAS *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 DE CLADO 8 HIPERVIRULENTO.

CASABONNE MC¹, SMITH LY¹, RIVIERE NA¹, MARQUES DA SILVA W¹, CATALDI AA¹, LUCHESSI PMA^{2,3}, LARZÁBAL M¹

**¹ Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) INTA-CONICET Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ² Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), UNCPBA-CICPBA-CONICET, Tandil, Buenos Aires, Argentina. ³ Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, CISAPA, Tandil, Buenos Aires, Argentina.
casabonne.maria@inta.gob.ar**

Escherichia coli enterohemorrágico (EHEC) O157:H7 clado 8 presenta una mayor producción de toxina Shiga 2 (Stx2) lo que las clasifica como hipervirulenta. Stx2 se encuentra codificada en el bacteriófago lambdaoide 933W en estado lisogénico. Bajo condiciones de estrés celular se activa la respuesta SOS induciendo el ciclo lítico del bacteriófago y por ende la transcripción de stx2. El promotor tardío pR', potencialmente ubicado en la región intergénica entre el antiterminador Q y stx2, dirige la expresión de la toxina. Objetivo: Identificar el promotor tardío pR' y los mecanismos moleculares involucrados en la sobreexpresión de Stx2a en cepas EHEC O157:H7 clado 8. Materiales y métodos: El clonado de la región de

interés se realizó mediante HIFI DNA Assembly. Se evaluó la expresión del gen reportero mediante espectrofluorimetría y citometría de flujo. Resultados: Se realizó un análisis bioinformático de la región intergénica para identificar la secuencia promotora pR' de *stx2a*. A su vez, la región fue comparada entre cepas hipervirulentas clado 8 y no clado 8 de EHEC O157:H7. Se detectaron cinco potenciales secuencias promotoras para *Stx2a*. Cuatro ubicadas en la región intergénica y una en la región 3' terminal del antiterminador Q. La región intergénica completa, incluyendo al antiterminador Q (QpR'), y una región parcial (Δ QpR') fueron clonadas río arriba del gen reportero mCherry en el vector pss047. Cepas EHEC O157:H7 clado 8 fueron transformadas con dichas construcciones y luego se indujo al ciclo lítico del bacteriófago 933W mediante mitomicina C. Se evaluó la expresión del gen reportero mediante espectrofluorimetría y citometría de flujo. Conclusión: Se identificaron cinco potenciales promotores para la transcripción de *stx2a* en la región comprendida entre el antiterminador Q y la región intergénica río arriba de *stx2a*. También se identificaron polimorfismos de nucleótidos entre las regiones intergénicas de las cepas clado 8 y no clado 8 de EHEC O157:H7.

P18. REGULACIÓN DE LA IL-1 β EN NEUTROFILOS DESAFIADOS CON *ESCHERICIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA (STEC)

SABBIONE F¹, KEITELMAN IA¹, SHIROMIZU CM¹, VEREERTBRUGGHEN A¹, VERA AGUILAR D¹, RUBATTO BIRRI PN¹, PIZZANO M¹, RAMOS MV², FUENTES F³, SAPOSNIK L^{4,5}, CASSATARO J^{4,5}, JANCIC C^{1,6}, GALLETI J¹, PALERMO M², TREVANI AS^{1,6}

1 Laboratorio de inmunidad innata. 2 Laboratorio de patogénesis e inmunología de procesos infecciosos, 3 Laboratorio de microscopía. Instituto de Medicina Experimental (IMEX) - CONICET, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina. 4 Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). 5 Escuela de Bio y Nanotecnologías (EByN), Universidad Nacional de San Martín. San Martín, Buenos Aires, Argentina. 6 Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. florenciasabbione@hotmail.com

Los neutrófilos son reclutados al intestino frente a la infección con STEC. Previamente determinamos que los neutrófilos humanos desafiados con STEC liberan IL-1 β por un mecanismo que involucra la activación de la caspasa-1 y de las serínproteasas neutrofílicas (SPN). Además, observamos que la secreción de IL-1 β en los neutrófilos es mayor a menores multiplicidades de infección (MDI) e independiente de la toxina Shiga. Determinamos que la liberación de esta citoquina fue similar con la cepa no productora de toxina (Δ stx2) y mayor respecto a una cepa de *E.coli* no patogénica (C600, n=10 p<0,05). Otros estudios demostraron que, en respuesta a otros estímulos, la Gasdermina-D (GSDMD) es procesada por caspasa-1 y forma poros en la membrana de los gránulos azurófilos de los neutrófilos, permitiendo a las SPN acceder al citosol. Allí, pueden procesar al precursor de la IL-1 β y a la GSDMD. En este estudio investigamos el mecanismo molecular involucrado en la secreción de IL-1 β inducida por STEC. En acuerdo con nuestros resultados previos, Ecotin, un inhibidor específico de la SPN elastasa, redujo la secreción de IL-1 β y el contenido intracelular (p<0,0001) inducidos por el desafío de neutrófilos con STEC (n=4). Por otra parte, Disulfiram (DSF), un inhibidor de GSDMD, redujo la activación de las SPN inducida por STEC

(n=6,p<0,05), redujo los niveles totales de la IL-1 β madura (n=3,p<0,05) e incrementó los niveles intracelulares de la proforma de IL-1 β (n=5,p<0,05). Estos hallazgos soportan que las SPN acceden al citosol por poros de GSDMD y pueden procesar al precursor de la IL-1 β . Además, la pre-activación de caspasa-1 conducente a incrementar la activación de GSDMD, redujo la secreción de IL-1 β en los neutrófilos desafiados con STEC (n=7,p<0,05). Dado que previamente observamos que la activación de caspasa-1 y de las SPN se incrementa a mayores MDI, y que la secuencia de la IL-1 β contiene numerosos sitios de corte para SPN que podrían procesarla o inactivarla, nuestros hallazgos sugieren que a mayores MDI, más SPN acceden al citosol, las que en lugar de procesar a la pro-IL-1 β conducen a su degradación. Ello sustenta que las SPN son clave en la regulación de la capacidad proinflamatoria de los neutrófilos en respuesta a STEC.

P19. ALTERACIONES VASCULARES Y PROGRESIÓN A LA CRONICIDAD EN UN MODELO SUBLETAL DE SUH EN RATA

OCHOA F¹⁻³, LAGO N², ZOTTA E¹⁻³.

***Depto de Cs. Fisiológicas-IFIBIO Houssay-CONICET, Facultad de Medicina, UBA⁽¹⁾,
Depto de Patología. Facultad de Medicina, UBA⁽²⁾, Catedra de Fisiopatología. Facultad
de Farmacia y Bioquímica, UBA⁽³⁾. oxhoaf@gmail.com***

En Argentina, el SUH constituye la primera causa de falla renal aguda en niños. El 30% puede presentar secuelas renales con evolución a la cronicidad. Previamente describimos en un modelo subletal de SUH en ratas el desarrollo de una transformación epitelio mesenquimática (EMT) de las células tubulares y glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) a 3 meses. El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar las alteraciones vasculares durante la evolución a la cronicidad y posibles factores involucrados. Se utilizaron tres grupos (G) de ratas Sprague-Dawley de 150 g. G1 fue inyectado por vía intraperitoneal con 0,25 mL de sobrenadante de cultivo bacteriano de *E-coli* recombinante que expresa Stx2 (1,66 μ gStx2/Kg, dosis subletal); G2, se agregó enalapril en el agua de bebida (50 mg/Kd/d) y el G3 (control) recibió 0,25 mL de solución salina. Se realizaron estudios funcionales, histológicos, e inmunohistoquímicos (IHQ) a 1 semana y 3 meses. En orina se detectaron valores alterados de proteinuria que mejoraron con la administración de enalapril (G1 vs G2). Por IHQ se detectó a la semana angiotensina II a nivel citoplasmático tubular y en el polo vascular glomerular (G1 y G2) a diferencia de G3 que marcó en región basolateral tubular y endotelio. A los 3 meses la marcación se caracterizó por señal periglomerular (G1) que se modificó luego del tratamiento con enalapril (G2). Se detectó aumento de fibrosis cortical y medular en G1 vs G3 (p<0.05). El estudio de los vasos mostró alteración en la relación luz/pared con engrosamiento de la media en forma de tiempo dependiente (G1). El enalapril (G2) mejoró la relación (p<0.05), sin llegar a valores controles, pero destacándose la presencia de hialinosis. Teniendo en cuenta nuestros resultados, alteraciones hemodinámicas mediadas por angiotensina II podrían estar involucradas en el desarrollo de los daños renales inducidos por Stx2.

P20. LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES LIBERADAS POR NEUTRÓFILOS HUMANOS SON CAPACES DE UNIR TOXINA SHIGA

KEITELMAN IA¹, SHIROMIZU CM¹, GÓMEZ FD³, VEREERTBRUGGHEN A¹, VERA AGUILAR D¹, PIZZANO M¹, PEREZ PS⁴, ROSATO M¹, RAMOS MV¹, JANCIC C^{1,2},

FUENTES F¹, AMARAL MM³, GALLETI JG¹, PALERMO M¹, SABBIONE F^{1,*},
TREVANI AS^{1,2,*}

1 IMEX-CONICET-Academia Nacional de Medicina. 2 Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. 3 Laboratorio de fisiopatogénesis, Departamento de fisiología, IFIBIO Houssay-CONICET, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. 4 INBIRS, Facultad de Medicina, UBA-CONICET. * Ambas autoras contribuyeron de igual manera.
irenekeitelman@gmail.com

En el síndrome urémico hemolítico (SUH), la toxina Shiga (Stx) no suele ser detectada libre en circulación, pero sí en células sanguíneas y vesículas extracelulares (VE). Durante la fase aguda del SUH el número de neutrófilos y las VE de la sangre se encuentran aumentados. Previamente describimos que los neutrófilos humanos luego de la estimulación con Stx2 liberan VE cargadas con Stx funcional (VEStx). En este estudio profundizamos la caracterización de la liberación de VE por los neutrófilos y su interacción con la Stx. Para ello, neutrófilos humanos de individuos sanos fueron tratados con Stx2 pura (100 ng/ml, VEStx) o vehículo (VEc) y luego de una incubación por 1h o 4h, se aislaron las VE por centrifugación diferencial. La capacidad de las mismas de transportar Stx funcional fue evaluada mediante un ensayo de citotoxicidad sobre células Vero. Determinamos que la liberación de VE por los neutrófilos no fue modulada por Stx, ya que las VEc y VEStx contuvieron niveles similares de proteínas (n=5) y de CD63 (n=10) evaluados por MicroBCA y western blot (WB) respectivamente. Además, ambos tipos de VE mostraron niveles similares de mieloperoxidasa y elastasa medidos por WB (n=3) y una actividad enzimática similar de proteasas evaluada por espectrometría (n=7). Asimismo, investigamos si las VE podían unir Stx luego de haber sido liberadas por el neutrófilo. Para ello, aislamos VEc y las incubamos por 1h con o sin Stx2 (100 ng/ml, VEc+Stx). Luego de lavarlas, evaluamos la capacidad citotóxica de las VEc+Stx, VEStx y VEc. Las VEc+Stx y VEStx redujeron la viabilidad celular respecto a las VEc (n=7, p<0,05). Estos resultados sugieren que las VE pueden unir Stx del medio extracelular, luego de haber sido liberadas por la célula. Queda por investigar si durante el SUH las VE liberadas de los neutrófilos ya portan Stx o si la unen tras ser liberadas a la circulación.

P21. CITOTOXICIDAD MEDIADA POR LA TOXINA SHIGA: EXPLORANDO UN POSIBLE ROL DE LA PROTEÍNA TDP-43.

PINTO A¹, ARENAS-MOSQUERA D¹, MIRET N², RAMOS ALOI AB¹, VASSALLU F¹,
RANDI A², GOLDSTEIN J¹, MULLER IGAZ L¹.

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. Instituto de Fisiología y Biofísica "Bernardo Houssay" (IFIBIO Houssay) UBA-CONICET. Buenos Aires, Argentina. ²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Departamento de Bioquímica Humana, Laboratorio de Efectos Biológicos de Contaminantes Ambientales, Buenos Aires, Argentina.

La proteína TDP-43 es clave en la patogénesis de varias enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la esclerosis lateral amiotrófica y demencia frontotemporal. Su agregación y relocalización anómala en el citoplasma de las células nerviosas está estrechamente relacionada con la degeneración neuronal; sin embargo, poco se conoce sobre su rol en otros tipos de procesos patogénicos. El presente trabajo tiene como objetivo determinar cambios

patológicos en TDP-43 producidos por la toxina Shiga (Stx) en modelos in vivo (cerebro de ratones) e in vitro (línea celular MDA-MB-231 de cáncer de mama triple negativo). Ratones macho fueron tratados de forma sistémica (intravenosa) con dosis no letales de Stx2 o vehículo. Luego de 4 días, los ratones fueron perfundidos y sus cerebros procesados para inmunofluorescencia (IF). Por otro lado, las células fueron tratadas con 10 ng/ml de: Stx2, anti-Gb3 (receptor de Stx) o vehículo, en presencia o ausencia del inhibidor de la síntesis de Gb3, PPMP. Luego de 2 días, las células fueron fijadas y procesadas para IF. Los animales inyectados con Stx2 mostraron un aumento significativo en las células con marca anómala para el marcador neuronal NeuN, en múltiples regiones (tálamo y cortezas prefrontal, motora y somatosensorial). Experimentos preliminares no revelaron alteraciones groseras en la señal de TDP-43. Por otro lado, hemos descripto recientemente la acción citotóxica de Stx en células neoplásicas MDA-MB-231. Al estudiar in vitro la respuesta de TDP-43 en el contexto del efecto citotóxico de Stx o anti-Gb3, se observó un aumento significativo tanto en la expresión nuclear como en la localización citoplasmática en las células tratadas con Stx2, mientras que ambos parámetros fueron disminuidos significativamente por el tratamiento con PPMP. Postulamos que TDP-43 podría tener un rol en la citotoxicidad mediada por Stx2 tanto in vivo en el cerebro, como en modelos in vitro de cáncer de mama.

P22. LOS ANTICUERPOS ANTI-ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE STX(STEC) DEFINEN LA EVOLUCIÓN DE LAS INFECCIONES

BERNAL AM¹, SOSA FN¹, CARPINTERO POLANCO YM¹, CANCINO CD¹, FERNÁNDEZ BRANDO RJ¹, RAMOS MV¹, RUMBO M², PALERMO MS¹

¹ Instituto de Medicina Experimental- CONICET- Academia Nacional de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. ² Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos- CONICET- Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. alanmbernal@gmail.com

Previamente demostramos que la producción temprana de anticuerpos específicos durante las infecciones con STEC en ratones BALB es fundamental para evitar la progresión a SUH. El objetivo de este trabajo es caracterizar los mecanismos involucrados. Ratones BALB al destete fueron infectados con 3 dosis crecientes no letales de STEC (1-5x10¹⁰ UFC/ratón), cada 10 días. Siete días después de la última, se recogió plasma y heces para confirmar el aumento del título de anticuerpos anti-STECS mediante ELISA. El título de IgG anti-STECS en plasma fue de 2048 y el de IgA en heces fue de 1024 (ANOVA, p<0.05, n=4). Se analizó la capacidad opsonizante y neutralizante de los anticuerpos anti-STECS incubando heces (dilución 1/2) o plasma (dilución 1/10) de ratones infectados o no (controles) con STEC (1x10⁷ UFC) durante 2 h. Los plasmas y heces de ratones infectados fueron capaces de opsonizar STEC en comparación con muestras controles, determinado por citometría de flujo utilizando anticuerpos secundarios anti-IgG o IgA murina acoplados a FITC (STECS-IgG: 96,0%±5,3/ 9,2%±2,4 plasma infectados versus controles; STECS-IgA: 98,5%±0,6/ 5,94%±0,6 heces infectados versus controles, t test, p<0,0001, n=3). Controles de especificidad usando E. coli comensal no mostraron unión inespecífica. Se analizó el crecimiento bacteriano, determinando la densidad óptica a 600 nm cada 20 min durante 18 h, y la motilidad en agar blando, midiendo halos de difusión a las 48 h. Los plasmas de ratones infectados inhibieron el crecimiento bacteriano a 600 min (ANOVA, p<0.001, n=2,) y la motilidad a 48 h comparado con los controles (t test, p<0.001, n=4). Concluimos que los anticuerpos anti-STECS opsonizantes y neutralizantes podrían interferir con la adhesión al epitelio intestinal y, en

consecuencia, limitar la patogenicidad de STEC. De esta manera, la respuesta inmune humoral en la mucosa intestinal define la evolución de las infecciones por STEC.

P23. UNA DIETA DESEQUILIBRADA AGRAVA LOS EFECTOS DE STX2 LOCAL IMPACTANDO EN EL EJE CEREBRO-INTESTINO.

RAMOS-ALOI AB¹, KRAWCZYK MC², CANGELOSI A³, GEOGHEGAN PA³, MEDINA C², BOCCIA MM², GOLDSTEIN J¹, PINTO A¹.

¹Universidad de Buenos Aires - CONICET. Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay), Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas. Laboratorio de Neurofisiopatología. Buenos Aires, Argentina.

²Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Farmacia y bioquímica (FFyB), Catedra de Farmacología, Laboratorio de Neurofarmacología de los Procesos de Memoria, Buenos Aires, Argentina. ³Centro Nacional de Control de Calidad de Biológicos (CNCCB), "ANLIS, Dr. Carlos G. Malbrán", Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

La encefalopatía producida por Stx asociada al síndrome urémico hemolítico (SUH) es el factor determinante de la mayor morbimortalidad de la enfermedad. La calidad nutricional podría ser una de las razones por las que, ante un brote de SUH, algunos pacientes experimentan efectos más profundamente nocivos que otros, incluida la muerte. El objetivo de este estudio fue determinar si dietas excesivas en grasas y/o carbohidratos podrían agravar la acción deletérea de Stx2 en el eje cerebro-intestino vía vagal. El nervio vago es el principal modulador de la actividad del tubo digestivo. Ratones recién destetados fueron alimentados durante 24 días, con una dieta: balanceada (control), excedida en grasas y/o en carbohidratos. En el día 20 se dividieron los ratones de cada dieta en dos subgrupos (n=10) para ser inyectados intracerebroventricularmente (icv) con Stx2 o vehículo (PBS). En el día 24, los ratones fueron sacrificados; a una mitad se le extrajeron sus intestinos, mientras que la otra mitad fue perfundida con paraformaldehído. Los intestinos fueron pesados para determinar el contenido de agua. El complejo dorsal del vago (CDV) fue procesado para determinar por inmunofluorescencia reacción astrocitaria (GFAP) y reacción microglial (Iba1), involucrados en inflamación. El tratamiento de la dieta combinada (excedida en grasas y carbohidratos) junto a Stx2 icv redujo significativamente ($p < 0,05$) el contenido de agua intestinal y un aumento máximo en la expresión de GFAP respecto a las demás dietas. En el caso de Iba1, el tratamiento con Stx2 en las dietas normal, rica en grasas y rica en carbohidratos mostró un aumento significativo ($p < 0,05$) con respecto a los controles. Los resultados sugieren que una dieta excesiva en grasas y carbohidratos agrava el efecto deletéreo de Stx2 icv en el CDV impactando en el estado funcional intestinal vía vagal.

P24. ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA ESTIMULA LA SECRECIÓN DE IL-1 β POR CÉLULAS INFLAMATORIAS MURINAS

VERA AGUILAR D¹, KEITELMAN I¹, SABBIONE F¹, VEREERTBRUGGHEN A¹, SHIROMIZU CM¹, VERMEULEN M², PIZZANO M¹, BERNAL A³, FERNÁNDEZ BRANDO R³, GALLETTI J¹, PALERMO M³, TREVANI AS^{1,4}.

¹ Laboratorio de inmunidad innata, ² Laboratorio de células presentadoras de antígenos y respuesta inflamatoria, ³ Laboratorio de patogénesis e inmunología de procesos infecciosos, Instituto de Medicina Experimental (IMEX) – CONICET -

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 difracción 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

de FabC11:Stx1/Stx2-PEG (144 µg/ratón), protege a un 25-50% de los animales de una DL100 de Stx2 y que mejora los niveles de urea plasmática en estos animales. Estos resultados prometedores sitúan a este fragmento conjugado como un potencial candidato terapéutico contra el desarrollo del SUH.

P27. EFECTO ANTAGÓNICO DELACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM CIDCA83114 SOBRE PATOGENICIDAD DE EHEC IN VITRO

**CANCINO CD¹, CARPINTERO POLANCO YM¹, BERNAL AM¹, SOSA FN¹, RAMOS MV¹,
ABRAHAM AG², GARROTE G², PALERMO MS¹, FERNÁNDEZ BRANDO RJ¹.**

**1 Instituto de Medicina Experimental (IMEX)-CONICET-Academia Nacional de Medicina,
Bs As. 2 Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) -
CONICET-UNLP-CIC.PBA. cdcancino@gmail.com**

Evidencia creciente respalda el uso de probióticos para tratar y prevenir enfermedades intestinales. *Lactiplantibacillus plantarum* CIDCA83114 (CIDCA83114) mostró reducir el crecimiento de EHEC y la actividad citotóxica en células VERO de sobrenadantes de EHEC conteniendo Stx. Este estudio se propuso evaluar el impacto de CIDCA83114 sobre la patogenicidad de un aislamiento humano de EHEC. Se realizaron cocultivos en proporciones 1:1; 1:10 y 1:100 (EHEC:CIDCA83114); y se evaluó inhibición del crecimiento por recuento de UFC, producción de Stx2 por ELISA, citotoxicidad en VERO, se midió pH y concentración de lactato en sobrenadantes de cultivo. Además, se usaron sobrenadantes condicionados de CIDCA83114 y lactato para replicar los cocultivos. Se evaluó adhesión bacteriana a Caco-2 y niveles de transcripción de *il8* y *tgfβ* por qPCR. CIDCA83114 inhibió el crecimiento de EHEC desde las 6h de cocultivo en proporción 1:100 ($p < 0,01$), correlacionado con un aumento de la concentración de lactato ($p < 0,01$) y reducción del pH ($p < 0,0001$); junto con menor concentración de Stx2 (ELISA $p < 0,001$; citotoxicidad en VERO $p < 0,005$). Sobrenadantes condicionados con pH inferior a 5,4 disminuyeron el crecimiento de EHEC ($p < 0,05$) pero no la producción de Stx2. Concentraciones de lactato mayores a 180 mg/ml a pH 3,7 inhibieron el crecimiento de EHEC ($p < 0,0001$) y aunque no afectaron la concentración de Stx2, disminuyeron su citotoxicidad en VERO ($p < 0,0005$). Además, CIDCA83114 redujo la adhesión de EHEC a células Caco-2 por exclusión ($p < 0,05$) y niveles aumentados de ARNm de IL8 y TGFβ (ANOVA $p < 0,01$). Resumidamente, el lactato y el descenso del pH participan en la inhibición de la patogenicidad de EHEC por CIDCA83114. Además, CIDCA83114 reduce la adhesión a Caco-2 y la producción de IL8 y TGFβ. Estos resultados alientan a estudiar su potencial *in vivo*.

P28. EFECTO DEL ESTRADIOL EN CULTIVOS PRIMARIOS DE CÉLULAS EPITELIALES TUBULARES RENALES HUMANAS LUEGO DE LA EXPOSICIÓN A LA TOXINA SHIGA TIPO 2.

SANCHEZ DS, FISCHER SIGEL LK, SILBERSTEIN C

**Departamento de Cs. Fisiológicas, Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo
Houssay (IFIBIO-HOUSSAY)-CONICET, Facultad de Medicina, UBA.**

Globotriaosilceramida (Gb3) es el principal receptor de la toxina Shiga (Stx), localizado en la superficie de las células diana renales. Previamente, demostramos que el tratamiento con Eliglustat (EG, Sanofi), inhibidor de la glucosilceramida sintasa, redujo la expresión del Gb3 y protegió de los efectos citotóxicos de Stx2 en cultivos primarios de células epiteliales tubulares renales humanas (HRTEC) expuestas a Stx tipo 2 (Stx2) (Sánchez y col., *Pediatr Res*, 2021). También observamos que el estradiol estimuló la proliferación celular de HRTEC (Sánchez y col, *BBRC*, 2019). Por lo tanto, el objetivo del trabajo fue investigar el efecto del estradiol sobre la recuperación del epitelio tubular renal en HRTEC, luego de la exposición a Stx2, en presencia o no de EG. Las HRTEC recibieron un pulso por 2h de Stx2 de 1 ng/ml (DC50) o concentraciones menores (0,01 y 0,001 ng/mL), seguido de un período de recuperación de 24h en medio sin Stx2, en presencia y ausencia de 17 β -estradiol (17 β E) 10 nM, ó EG 500 nM. Luego, se evaluó la proliferación celular por incorporación de bromodeoxiuridina, la activación de β -catenina por inmunofluorescencia, y la apoptosis celular por anexina V-bromuro de etidio. El efecto citotóxico de Stx2 sobre las HRTEC fue dosis dependiente. El 17 β E estimuló la proliferación celular activando la vía de β -catenina, estimuló la recuperación de la proliferación de HRTEC después del daño por concentraciones bajas de Stx2 y luego del co-tratamiento con 1 ng/mL Stx2 y EG. Además, el 17 β E redujo el aumento de la apoptosis causado por Stx2. Los resultados sugieren que el tratamiento transitorio con estradiol, u otros compuestos que estimulen la proliferación celular, junto a fármacos que puedan reducir la expresión del receptor Gb3, podrían tener implicancia terapéutica para la recuperación del daño de los epitelios renales causado por Stx en el Síndrome Urémico Hemolítico.

P29. LA TOXINA SHIGA COMO NUEVO AGENTE CONTRA EL CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO

PINTO A¹, MIRET NV², RAMOS-ALOI AB¹, RANDI AS², GOLDSTEIN J¹,

¹Universidad de Buenos Aires - CONICET. Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (IFIBIO Houssay), Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas. Laboratorio de Neurofisiopatología. Buenos Aires, Argentina.

²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Departamento de Bioquímica Humana, Laboratorio de Efectos Biológicos de Contaminantes Ambientales, Buenos Aires, Argentina.

La toxina Shiga (Stx) es la responsable de producir el síndrome urémico hemolítico típico. Existen dos tipos de Stx, Stx1 y Stx2, que presentan 60% de homología. Clásicamente, el efecto citotóxico de Stx está mediado por su receptor globotriaosilceramida (Gb3). Gb3 tiene un perfil limitado de expresión en células humanas y está sobreexpresado en muchas células neoplásicas, incluidos los tumores de mama. El cáncer de mama es la neoplasia maligna más común y la principal causa de muerte relacionada con el cáncer en mujeres. El cáncer de mama triple negativo (TNBC) es el más agresivo y difícil de tratar. El objetivo de este estudio fue determinar el potencial de Stx como un nuevo agente citotóxico en la línea celular humana de TNBC MDA-MB-231. Las células fueron tratadas con Stx1, Stx2 o el anticuerpo anti-Gb3. Además, se utilizaron la línea celular epitelial mamaria no tumorigénica NMuMG y células VERO como control negativo y positivo de la expresión de Gb3. El contenido de Gb3 y la captación de Stx se observaron mediante inmunofluorescencia en células MDA-MB-231 y VERO. Los resultados de MTT mostraron que 10 ng/ml de Stx1, Stx2 y anti-Gb3 redujeron en

50%, 40% y 10% respectivamente la viabilidad celular después de 48h (la diferencia fue significativa entre todos los tratamientos). Además, 10 ng/ml de estas toxinas aumentaron significativamente el número de células con cariorrexis y autofagia, redujeron la tasa de mitosis, la incorporación de BrdU y la tasa de migración celular. El tratamiento con PPMP (un inhibidor de la síntesis de Gb3) revirtió significativamente todos los efectos observados. Las células MDA-MB-231 son susceptibles a Stx y a anti-Gb3, lo que sugiere que Stx podría usarse como agente antineoplásico en TNBC. Sin embargo, son necesarios más estudios en diferentes líneas celulares y modelos in vivo para confirmar estos hallazgos.

P30. ESTUDIO DEL SECRETOMA DE *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* CRL681 EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICO

BAILLO Ayelen¹, VILLENA Julio¹, FADDA Silvina¹

Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA), CONICET, Tucumán.

abaillo@cerela.org.ar

Lactiplantibacillus plantarum CRL681 (Lp681) es capaz de inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* enterohemorrágico (EHEC) en carne. Los mecanismos implicados en la inhibición aún no fueron dilucidados. En este trabajo se estudiaron las proteínas secretadas por Lp681 en presencia y ausencia de EHEC O157:H7 para identificar posibles mecanismos de inhibición. Los ensayos del secretoma de Lp681 en presencia y ausencia del patógeno se realizaron en medios químicamente definidos. Las proteínas contenidas en el sobrenadante libre de células fueron precipitadas con ácido tricloroacético, mientras que las células fueron sometidas a un raspado de superficie utilizando 5 µg de tripsina. Las muestras se acondicionaron para ser analizadas por espectrometría de masa. El análisis de las proteínas expresadas diferencialmente se realizó utilizando los programas Psort, Gpos-mPLoc, MoonProt, SignalP-6.0, y SecretomeP-2.0. La anotación funcional y agrupación de ortólogos se realizaron con EggNOG y KEGG, mientras que las proteínas secretadas se estudiaron con STRING. Se identificaron 113 proteínas para el exoproteoma y 533 para el surfaceoma de Lp681 en presencia y ausencia de EHEC. Se observó que EHEC afecta la expresión de proteínas relacionadas con el metabolismo, procesos celulares y de señalización de Lp681. Según la distribución de grupos de genes ortólogos, la mayoría de las proteínas se encontraron en las categorías de funciones de biogénesis de la membrana y pared celular (hidrolasas), y transducción (proteínas ribosomales). Además se encontraron proteínas con funciones moonlighting de adherencia, lo que podría conferir una ventaja competitiva a Lp681 frente a EHEC. Considerando que muchas de las proteínas secretadas por Lp681 son peptidoglicano hidrolasas y proteínas ribosomales, las mismas podrían tener un efecto antimicrobiano sobre EHEC mediante la generación de especies reactivas de oxígeno y la lisis celular por permeabilización de la membrana. Se requieren estudios adicionales para confirmar el mecanismo de acción sugerido por este análisis proteómico.

P31. *ESCHERICHIA COLI* VEROTOXIGÉNICO Y ENTEROPATÓGENO EN AGUA SUBTERRÁNEA Y EFLUENTES DE GRANJAS PORCINAS

**GONZÁLEZ J^{1,3}, KRÜGER A¹, MELZI ME³, SILVA SH², CISNEROS BASUALDO NE²,
ARRIEN MM², TABERA A³, RODRÍGUEZ CI³.**

¹ Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología (FCV-UNCPBA), Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-UNCPBA). ² Laboratorio de Microbiología de los Alimentos, Departamento de Tecnología y Calidad de los Alimentos (FCV-UNCPBA). ³ Centro de Investigaciones y Estudios Ambientales (CINEA-FCH-UNCPBA).

La producción porcina presenta fuertes proyecciones de crecimiento e intensificación, lo que podría traer aparejadas alteraciones en la calidad del recurso hídrico local y regionalmente. *Escherichia coli* diarreigénica representa un grupo de patógenos zoonóticos de importancia en salud pública. *E. coli* verotoxigénica (VTEC) y *E. coli* enteropatógena (EPEC) son patotipos de *E. coli* asociados con infecciones gastrointestinales tanto en humanos como en cerdos. El objetivo de este trabajo fue identificar cepas *E. coli*, VTEC y EPEC en agua y efluentes de pequeñas y medianas granjas de producción porcina. Se analizaron muestras de agua subterránea (N=12) y de efluentes (N=10) recolectadas en 2022, provenientes de 12 granjas de producción porcina ubicadas en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires. Las muestras se cultivaron en medio LB y posteriormente en agar MacConkey. Se realizó un screening de los genes *vtx1*, *vtx2*, *eae* y *uspA*. Se realizaron pruebas bioquímicas a las colonias presuntivas. El 54,5% de las muestras analizadas fueron positivas para *E. coli* (3 aguas subterráneas y 9 efluentes), 2 efluentes (9,1%) para *vtx2* y *eae*, y 1 efluente (4,5%) para *eae*. Se obtuvieron 34 aislamientos de *E. coli*; sin embargo, no se logró aislar VTEC ni EPEC. La presencia de *E. coli* en muestras de agua subterránea indica contaminación fecal reciente, y podría atribuirse a la ubicación de las instalaciones y la disposición de efluentes de estas granjas en relación a la fuente de abastecimiento de agua subterránea. Sumado a ello, la presencia de *vtx2* alerta de la circulación de VTEC. Este hallazgo es alarmante dado que en estos establecimientos el agua era utilizada tanto para consumo humano como animal, e implicaría un potencial riesgo de afección de la comunidad vecina y del recurso hídrico regionalmente.

P32. *ESCHERICHIA COLI* DIARREIGÉNICO EN ARROYOS URBANOS PAMPEANOS.

GONZÁLEZ J^{1,3}, KRÜGER A^{1,3}, BARRANQUERO R^{2,3}, DIPARDO B^{2,4}, GONZALEZ CASTELAIN J^{5,6}, ETCHEGARAY V⁷, MASSON I^{4,5,6}.

**¹ Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología (FCV-UNCPBA), Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-UNCPBA). ² Centro de Investigaciones y Estudios Ambientales (CIC-UNCPBA). ³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ⁴ Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC). ⁵ Instituto de Hidrología de Llanuras "Dr. Eduardo J. Usunoff" (IHLLA). ⁶ Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Pcia. De Buenos Aires. ⁷ Facultad de Ciencias Humanas (UNCPBA).
*julianag@vet.unicen.edu.ar***

Escherichia coli forma parte de la microbiota normal del intestino del hombre y de otros mamíferos. Sin embargo, algunas cepas pueden producir enfermedades en el ser humano. En las cuencas de los arroyos Languetú y Del Azul, con nacientes en el sistema serrano de Tandilia, se asientan ciudades intermedias, Tandil y Azul respectivamente, que afectan la dinámica y calidad del agua. Los arroyos reciben descargas, principalmente de plantas de tratamiento de aguas residuales y fábricas alimenticias y de fuentes difusas asociadas principalmente a actividades agrícolas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia de

E. coli verotoxigénico (VTEC) y *E. coli* enteropatógeno (EPEC) en muestras de los arroyos mencionados, sumando uno de referencia no afectado por la dinámica urbana. Se analizaron 20 muestras provenientes de diferentes sitios de los arroyos, recolectadas en dos muestreos (2022 y 2023). Se evaluó mediante PCR, la presencia de genes que codifican verotoxina 1 (*vtx1*), verotoxina 2 (*vtx2*) e intimina (*eae*), en zonas confluentes de cultivos de las muestras y en pools de colonias aisladas. El 55% (11/20) de las muestras analizadas fueron positivas para *eae* y el 5% (1/20) para *vtx1* y *eae*. De los 68 aislamientos de *E. coli* obtenidos a partir de las muestras el 27,9% correspondería al patotipo EPEC. No se logró aislar VTEC a partir de muestra preurbana del arroyo Del Azul (*vtx1+*, *eae+*). La presencia de VTEC y EPEC en los cursos de agua superficiales es un motivo de preocupación debido al riesgo que estos patógenos representan para la salud humana.

P33. APLICACIÓN DE BACTERIÓFAGOS EN LA REDUCCIÓN DE *BIOFILMS* DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA

RODRÍGUEZ VA^{1,2}, VÉLEZ MV^{1,2}, COLELLO R^{1,2}, PADOLA NL^{1,2}, KRÜGER A^{1,2}, LUCCHESI PMA^{1,2}

1. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Núcleo CISAPA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. 2. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), UNCPBA-CICPBA-CONICET, Tandil, Buenos Aires, Argentina.
varodriguez@vet.unicen.edu.ar

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) puede formar *biofilms*, que son comunidades de microorganismos embebidas en una matriz de exopolisacáridos, donde adquieren mayor resistencia ante procedimientos de desinfección y limpieza. Los bacteriófagos y sus enzimas fágicas podrían ser una herramienta efectiva y segura para resolver problemas asociados a STEC en la industria alimentaria. Para su aplicación como una herramienta en biocontrol deben seleccionarse aquellos que sean estrictamente líticos. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto de 3 bacteriófagos líticos (F1, F2 y F3) sobre *biofilms* formados por STEC. Trabajamos con tres cepas STEC correspondientes a los serotipos O91:H21 (cepa 1) y O174:H21 (cepas 2 y 3), que cultivamos para favorecer la formación de *biofilms* en placas de 96 pocillos por 48h a 37°C. Luego de retirar el medio de cultivo, tratamos 3 pocillos de cada cepa con una suspensión de alto título de cada bacteriófago y otros 3 se dejaron como control agregándoles el mismo volumen de caldo Luria Bertani. Continuamos la incubación a 37°C por 24h; posteriormente realizamos la tinción de los *biofilms* formados con cristal violeta y medimos la DO a 570 nm. Realizamos el ensayo en tres eventos independientes. Según el valor de DO clasificamos a las cepas por su capacidad de formar *biofilms* en 4 categorías: no formadoras (NFB), débiles formadoras (DFB), moderadas formadoras (MFB), y fuertes formadoras (FFB). Las cepas 2 y 3 resultaron MFB y la cepa 1, FFB. Observamos reducciones del 56,4 y 51,3% del *biofilm* producido por la cepa 1 por tratamiento con los bacteriófagos F1 y F2, respectivamente, y del 51,8% del *biofilm* producido por la cepa 3 por el bacteriófago F3. Podemos concluir que los 3 bacteriófagos evaluados representan una estrategia alternativa para el control de *biofilms* formados por cepas STEC.

P36. GIECIEN: DIEZ AÑOS DE TRABAJO EN EL DESARROLLO DE PRÁCTICAS EDUCATIVAS PARA LA PREVENCIÓN DEL SUH EN DIFERENTES CONTEXTOS

LAMPERT DA¹, LEOTTA GA², CABEZAS DA³, PORRO S⁴

1 Grupo de Investigación en Enseñanza de las Ciencias (GIECIEN), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes / CONICET. 2 Instituto de Ciencia y Tecnología de Sistemas Alimentarios Sustentables / CONICET. 3 Laboratorio de Investigación en Funcionalidad y Tecnología de Alimentos (LIFTA), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes / CONICET. 4 Grupo de Investigación en Enseñanza de las Ciencias (GIECIEN), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes

En Argentina, se han impulsado propuestas educativas para trabajar las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) y las zoonosis, a partir de investigaciones y proyectos internacionales del equipo de autoría. Así, las ETA en general y el síndrome urémico hemolítico (SUH) en particular, comenzaron a ocupar un lugar en los planes de estudio y en las planificaciones del profesorado de los diferentes niveles educativos. Desde el GIECIEN, se ha trabajado en cuatro niveles: primario, secundario, terciario y universitario de formación y actualización docente. Este resumen proporciona un análisis del trayecto realizado en la prevención del SUH y el alcance interprovincial. Durante dicho periodo, se han desarrollado diferentes libros de texto de acceso gratuito con editoriales educativas, para alcanzar instituciones formales y no formales. Por otro lado, se han desarrollado diferentes herramientas educativas lúdicas para incorporar las medidas preventivas del SUH desde una salud. Por tal motivo, juguetes, granjas educativas, novelas y otros, se han implementado con resultados significativos según test validados en relación al cambio de competencias del estudiantado. Asimismo, se ha participado en la presentación de los profesorados de la Provincia de Buenos Aires donde se ha sugerido la incorporación de la temática en la currícula. En esta línea, se ha trabajado buscando que el estudiantado se convierta en un agente de divulgación. Por ello, en diferentes instituciones educativas se han desarrollado centros o áreas de investigación, para compartir lo aprendido y transmitir a los niveles educativos anteriores. Por ejemplo, en una escuela secundaria se desarrolló un área, a modo de pasantías, donde se trabajan aspectos de bromatología y concientizan en el nivel primario. Los desarrollos se insertan desde la perspectiva CTS/STEM con la Geografía de la Salud como metaconocimiento, a partir del análisis de variables ambientales, culturales y de acceso a salud, y no únicamente desde una perspectiva clínica-epidemiológica.

15.15 h. Presentaciones orales

O13. DISEÑO Y EVALUACIÓN DE PROTOTIPOS VACUNALES PARA BOVINOS CONTRA *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICA O157:H7

RAMIREZ H^{1*}, VILTE DA², HOZBOR, D³, ZURITA E³, BOTTERO D³, CASABONNE MC⁴, CATALDI AA⁴, WIGDOROVITZ A¹⁵, LARZABAL M⁴.

¹ Bioinnovo S.A., Buenos Aires, Argentina. INCUINTA ² Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVet), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Buenos Aires, Argentina. ³ Laboratorio VacSal. Instituto de Biotecnología y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. CONICET. La Plata, Buenos Aires Argentina. ⁴ Instituto de Agrobiotecnología Molecular (IABIMO), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Buenos Aires, Argentina ⁵ Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina. hramirez@bioinnovo.com

Los bovinos son el principal reservorio del patógeno zoonótico *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7. Pudimos demostrar que formulaciones vacunales preparadas a partir de componentes del sistema de secreción de tipo III (SST3) de EHEC O157:H7 vinculado a la colonización intestinal generan una elevada respuesta inmune capaz de impedir eficazmente su colonización por EHEC O157:H7. La dificultad en la comerciabilidad de una vacuna específica para EHEC O157:H7 en bovinos, nos llevó al diseño y desarrollo de un prototipo vacunal multivalente. Nuestro objetivo es la evaluación en el modelo murino y de cobayo de prototipo vacunal multivalente formulada a partir de antígenos del SST3 de EHEC O157:H7 fusionados y expresados en la membrana de agentes responsables de la diarrea neonatal del ternero (DNT). A partir de antígenos del SST3 de EHEC O157:H7 se realizaron 7 formulaciones vacunales que se ensayaron en ratones (8 grupos; n=5) y 2 en cobayos (2 grupos; n=5). Mediante ensayos de ELISA indirecto y seroneutralización se evaluó la respuesta inmune humoral. Para evaluar la respuesta inmune celular se realizaron ensayos de estimulación sobre esplenocitos. Los ensayos de ELISA realizados para evaluar los niveles de IgG total y los isotipos IgG1 e IgG2a mostraron que tanto los inmunógenos individuales como los fusionados indujeron niveles elevados de anticuerpos específicos contra las bacterias y las proteínas específicas de SST3 en ambos modelos animales. También se detectaron niveles altos de IFN γ y de IL-5 en los animales inmunizados con la proteína de fusión expresada en agentes responsables de DNT. La proteína de fusión del sistema SST3 expresada en agentes responsables de DNT demostró ser más inmunogénica que los inmunógenos no fusionados. Los resultados sientan las bases para el diseño y realización de un ensayo de vacunación en bovinos con el objetivo de evaluar el grado de protección frente a la colonización intestinal de EHEC O157:H7.

O14. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LÍTICA DE FAGOS ESPECÍFICOS DE STEC CONTRA UNA CEPA O121:H21 STX2E POSITIVA.

JUÁREZ AE^{1,2}, DUALDE M^{1,2}, COLELLO R^{1,2}, PADOLA N^{1,2}, KRÜGER A^{1,2}, LUCCHESI PMA^{1,2}

1 Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA). Facultad de Ciencias Veterinarias, CISAPA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. 2 Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CICPBA-CONICET, Tandil, Buenos Aires, Argentina. anajuarez@vet.unicen.edu.ar

Las cepas de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) portadoras del subtipo stx2e están asociadas principalmente a la enfermedad de los edemas en cerdos. Aunque los reportes de aislamientos en humanos son escasos, así como el rol de STEC portadora de stx2e en el desarrollo de diferentes patologías, resulta relevante eliminar la presencia de este patógeno. Una estrategia podría ser utilizar fagos virulentos específicos para STEC como medida de control. Por dicha razón, nuestro objetivo fue evaluar si fagos con capacidad lítica sobre diversas cepas STEC de origen bovino y alimentario eran también capaces de lisar una cepa STEC O121 portadora de stx2e proveniente de cerdo. Se seleccionaron 8 fagos aislados previamente del ambiente de tambos bovinos que poseen actividad lítica sobre cepas STEC portadoras de stx2a de diferentes serogrupos u otros subtipos stx también asociados a enfermedad en humanos. Se evaluaron mediante la técnica de "spot test" sobre una cepa O121:H21 positiva a stx2e aislada de una sala de desposte de carne de cerdo. Asimismo, se

estimó la eficiencia de plaqueo (EOP) en referencia a la cepa hospedadora DH5 α . Seis fagos evidenciaron efecto lítico frente a la cepa stx2e-STE C con EOP comparable, y en algunos casos superior, a la observada con las otras cepas STE C . Estos resultados muestran que un alto porcentaje de los fagos estudiados tienen rango amplio de hospedadores, y resultan de interés para ser usados en biocontrol incluso de cepas circulantes en un ambiente distinto del que fueron aislados.

O15. INHIBIDORES DE LA TOXINA SHIGA TIPO 2, DESCUBRIMIENTO, SÍNTESIS Y ENSAYO DE MOLÉCULAS CANDIDATAS

GIOIA D^{1,2}, CASAL JJ^{1,2}, BORTOLLOTTO K^{1,2}, MOLLO MC³, BELTRAMONE N^{1,2}, BOLLINI M³, y TORIANO R^{1,2}

1. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. Dpto. de Fisiología y Biofísica. Laboratorio de Biomembranas. Buenos Aires. Argentina. 2. CONICET- Universidad de Buenos Aires. Instituto de Fisiología y Biofísica “Bernardo Houssay” (IFIBIO Houssay). Buenos Aires. Argentina. 3. Centro de Investigaciones en Bionanociencias (CIBION) CONICET. Argentina. dgioia@fmed.uba.ar

El síndrome urémico hemolítico (SUH), enfermedad endémica en Argentina, cuyo principal desencadenante es la infección por *E. coli* productora de toxina Shiga (STE C). La toxina Shiga tipo 2 (Stx2), inhibe la síntesis de proteínas, desencadenando mecanismos proapoptóticos. No se dispone de un tratamiento específico para detener la progresión del SUH. Nuestros objetivos fueron: i) obtener moléculas con actividad anti-Stx2 transformables en fármacos y ii) ensayar su capacidad para disminuir la citotoxicidad sobre células HK2 y VERO. Partiendo de la estructura cristalizada de Stx2 (id:1R4P-PDB) y utilizando diseño de fármacos basado en la estructura (SBD), seleccionamos moléculas de diferentes bases de datos. Estudiando el acoplamiento molecular y la dinámica molecular de los complejos Stx2-droga, analizamos 20105 moléculas que clasificamos en tres grupos: A) “in house”, B) aprobadas por FDA y C) base Maybridge. Calculamos su energía libre de unión (ΔG_u) con el método PBSA y elegimos las mejores candidatas. Sintetizamos cuatro del Grupo A y adquirimos tres del Grupo B. Para las moléculas seleccionadas, los valores de ΔG_u (kcal/mol) fueron A1:-14.62; A3:-12.60; A16:-16.67; A24:-19.45; B3:-7.96 y B18:-18.13. Los resultados de ensayos in vitro de citotoxicidad de Stx2 sobre células renales HK2 y VERO, mostraron diferencias significativas entre la viabilidad de las monocapas tratadas solo con Stx2 (IC₅₀= 2.5-5ng/ml) vs Stx2+droga, con el siguiente detalle: i) con A3:10-2 μ M en HK2, $p < 0.05$, $n = 8$, aumento de la viabilidad 10% y ii) con B18:10-3 μ M en HK2, $p < 0.05$, $n = 6$, y 10-1 μ M en VERO, $p < 0.0001$, $n = 8$, con aumento de viabilidad del 20% y 24%, respectivamente. Con el objetivo de mejorar la solubilidad de A3 en medio acuoso, diseñamos ocho compuestos partiendo del mismo núcleo, y las sometimos a acoplamiento. Los resultados fueron: ΔG_u (kcal/mol) - 9.4 \pm 0.5 y -9.3 para media \pm SD y mediana, respectivamente. Nuestros resultados demuestran que al menos dos de las drogas seleccionadas mediante SBD tienen actividad anti-Stx2.

O16. NANOMICELAS DE SOLUPLUS ϕ ASOCIADAS A LACTOFERRINA: EFECTOS EN LA PATOGENICIDAD DE *E. COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA

GIRÓN CD^{1,2}, GOMEZ FD^{1,2}, AMARAL MM^{1,2}, IBARRA C^{1,2}, CHIAPPETTA D^{3,4,5}, MORETTON M^{3,4,5}, SACERDOTI F^{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. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Tecnología Farmacéutica I, Buenos Aires, Argentina. 4. Universidad de Buenos Aires, Instituto de Tecnología Farmacéutica y Biofarmacia (InTecFyB), Argentina. 5. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). cgiron@fmed.uba.ar

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) puede desencadenar síndrome urémico hemolítico (SUH) mediado por toxina Shiga tipo 2 (Stx2). Actualmente no existe una terapia específica para tratar las infecciones por STEC y los antibióticos están contraindicados. Previamente demostramos que la asociación de nanomicelas de Soluplus® (NM) con IgG anti Stx2 potencia la capacidad neutralizante de la toxina por parte de los anticuerpos. La lactoferrina es una proteína con funciones antimicrobianas. Proponemos que la asociación de NM con Lf puede mejorar las propiedades antimicrobianas de esta proteína. Nuestro objetivo fue desarrollar NM acopladas a lactoferrina bovina (NM-Lfb) y evaluar su capacidad de inhibir la patogenicidad de STEC. Para ello, se acoplaron NM1% a diferentes concentraciones de Lfb (5, 1, 0,1, mg/ml) por agitación magnética (NM-Lfb) y se determinó su tamaño por la técnica de dispersión de luz dinámica. Luego, se evaluó la capacidad de NM-Lfb (1%-0,1mg/ml) de inhibir el crecimiento de STEC in vitro y de inhibir la adhesión bacteriana a células intestinales humanas (HCT-8). El tamaño de las NM-Lfb aumentó al asociar mayores cantidades de Lfb ($78 \pm 0,7$; $138,3 \pm 5,5$ y $139,1 \pm 2,1$ nm para 0,1; 1 y 5 mg/ml de Lfb respectivamente; $***p < 0,005$). Esto sugiere una asociación de Lfb a las NM de manera dosis dependiente probablemente en forma de corona. Por otro lado, las NM-Lfb inhibieron de manera significativa el crecimiento de STEC comparado con Lfb ($1,78 \times 10^9$ vs $3,64 \times 10^9$ UFC/ml respectivamente ; $**p < 0,01$) y mejoraron en un 26% la capacidad de la Lfb de inhibir la adhesión de STEC a células HCT-8 ($***p < 0,0001$). Estos resultados sugieren que la asociación NM-Lfb puede ser una estrategia para vehiculizar y mejorar las propiedades de Lfb con el objetivo de ser utilizado como una herramienta para tratar infecciones por STEC y prevenir el SUH.

16.15 h. Conclusiones a cargo de las Coordinadoras de la Mesa

16.25 h. Mesa redonda

POLÍTICAS DE CONTROL Y PREVENCIÓN DEL SUH

COORDINADORAS

**Marcela Belardo. IESCODE-CONICET, Universidad Nacional José C Paz
Rocío Colello. FCV - Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires
- CIVETAN. Argentina.**

DISERTANTES

**MARCELO DA ROCHA
Presidente Asociación LuSUH**

info@lusuh.org.ar

APORTES DE LUSUH AL CONTROL DEL SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO

La sigla ONG corresponde a organización no gubernamental, refiriéndose a una institución o entidad privada sin ánimo de lucro, que no depende de gobiernos nacionales, provinciales o municipales ni de organismos internacionales y que realiza actividades de interés social las cuales y debe cumplir los siguientes requisitos (según definición de la ONU):

Proporcionar servicios de utilidad pública (orientados al bien público) sin reemplazar el rol o labor de los Estados. Buscar el beneficio común para la comunidad o grupo en el que realiza sus proyectos. Fomentar la participación y autogestión o autodesarrollo de la comunidad sin que esta se convierta en dependiente de la ayuda. La Asociación de lucha contra el síndrome urémico hemolítico (lusuh) surge de la voluntad (no del voluntarismo) de trabajo conjunto de científicos, profesionales de la salud, padres y familiares de pacientes que han padecido la patología, que en estos casi 20 años de vida institucional, han volcado todo su esfuerzo en pos de su principal objetivo: disminuir la incidencia del síndrome urémico hemolítico (SUH) en la Argentina, a través de la educación, difusión y la investigación, pero con la firme convicción que el logro de la preciada meta no la realizara, ninguna institución pública o privada en soledad, sino que requiere de un entramado, tal cual una red de pesca, que involucre: Trabajo interdisciplinario científico- profesional. Política de estado con vinculación horizontal interministerial estatal. Sensibilización social. Teniendo en cuenta que cada uno de los constitutivos implicados como los nudos de una red mantienen la solidez y eficacia de toda la estructura.

JORGE TAYLOR

**Profesional de Apoyo de la Dirección de Industrias y Productos Alimenticios del
Ministerio de Desarrollo Agrario de la provincia de Buenos Aires**

VISIÓN DEL SISTEMA DE CONTROL DE ALIMENTOS EN LA REPÚBLICA ARGENTINA

El Sistema Nacional de Control de Alimentos en la República Argentina está basado en el Decreto N°815/99. En ese contexto se establecieron los Organismos responsables de llevar adelante los procesos técnicos, administrativos y legales para las actividades de producción, transporte, distribución y comercialización de alimentos. Las Autoridades Sanitarias Nacionales están representadas por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, por parte del sector agropecuario y la ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica) del cual depende el INAL (Instituto Nacional de Alimentos) y el sector de Defensa del Consumidor. Las provincias participan como invitadas a la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL) y participan conjuntamente con las Autoridades Nacionales para la actualización del Código Alimentario Argentino (CAA) y armonización de las normas concurrentes en materia alimentaria. Un dato que nos convoca es que Argentina es el país con más casos anuales de SUH informados, en términos absolutos y por habitantes, de todo el mundo, según la información disponible. Es una situación lamentable que debe movilizar a todos los responsables de Áreas competentes en el tema para trabajar en la disminución de casos mediante esquemas preventivos que integren parte de las Políticas Públicas que todos los niveles de gobierno deben asumir. Durante el "VIII Encuentro Regional del Observatorio del Derecho a la Alimentación de América Latina y el Caribe" organizado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), el Observatorio del Derecho a la Alimentación de América Latina y el Caribe (ODA-ALC) y Agencia Española de Cooperación Internacional para el

Desarrollo, noviembre del 2018, en Cartagena de Indias, Colombia se abordaron temas que podemos retomar en esa dirección. En el mencionado VIII Encuentro Regional del ODA-ALC (2018) se declara que es valioso intensificar las políticas preventivas del SUH, mejorando los diseños institucionales de los países mayormente afectados por esta enfermedad en la región (América Latina y el Caribe), en primer lugar, aumentando el estándar preventivo actual existente en esos países. Así, tal como se expuso precedentemente, esa intensificación para el caso argentino debería implicar, al menos en términos de eficiencia, como mínimo de una inversión extra a la que se realiza en la actualidad, de 28 millones de dólares anuales o bien, de 280 millones de dólares, aproximadamente, cada diez años. La inversión en Salud es una de las herramientas preventivas más valiosas para abordar este tema. Disponer de controles sanitarios calificados con técnicos y profesionales respaldo de las autoridades para las medidas que deban tomarse de forma sistémica es una medida adecuada en todos los niveles estatales en materia de control de alimentos. Hoy nuestro país no tiene un sistema de control que sea preventivo. La acción del Estado, en materia de control de alimentos, tiene actitud reactiva, represiva y punitiva sin garantizar inocuidad. El sistema registral de trazabilidad no alcanza a impactar en la prevención y en todo caso colabora en el retiro de alimentos cuando se comunica un alerta y su consecuente retiro. En nuestro país vemos cada año casos y brotes de triquinosis y SUH, dos patologías prevenibles. Las medidas sanitarias vigentes en las plantas de faena no tienen carácter preventivo. Las prácticas de control durante la faena deberían focalizar los nuestros que se realizan sobre una media res en un lote de trescientas medias reses. Las reses se liberan antes de conocer el resultado final del hisopado. Las malas prácticas en el sistema de control conllevan riesgos que se traducen en la afectación de salud de población infantil, vulnerable, que genera secuelas o eventualmente la muerte. A la luz de la información que nuestro país dispone sobre los mecanismos de control que se aplican actualmente y viendo los resultados de casos que se notifican anualmente, podemos concluir que el sistema de control de alimentos en la República Argentina en prevención del SUH es insuficiente e ineficiente. Otra debilidad del Estado en la atención de esta patología, es la falta de campañas educativas permanentes y continuas en todos los sectores involucrados en el tema: productores, industrias, comercios y consumidores. Es importante armonizar los criterios y acciones a seguir en materia de control de alimentos en Argentina. La distribución de responsabilidades en diferentes Autoridades Sanitarias Nacionales, Provinciales y Municipales mediante el Decreto N°815, resulta ineficiente luego de 24 años de vigencia del mismo. Se deberá rediseñar un sistema de control de alimentos basado en la categorización del riesgo con participación de todos los niveles del Estado involucrados de forma imprescindible.

MARTINA IPARRAGUIRRE

Directora asociada de la Región Sanitaria VIII (Buenos Aires)

CAPACIDADES ESTATALES PARA POLÍTICAS PROMO-PREVENTIVAS

17.25 h. Conclusiones a cargo de las Coordinadoras de la Mesa

**17.45 h. CONCLUSIONES FINALES Y CIERRE A CARGO DE LA PRESIDENTA VTEC
2024**

