

Instituto de Fisiología y Biofísica – Bernardo Houssay (IFIBIO-Houssay)

Laboratorio de Fisiopatogenia
Cátedra de Fisiología y Biofísica-Unidad Académica 1

PROYECTO/S DE INVESTIGACIÓN

Desarrollos innovadores para el diagnóstico, tratamiento y prevención del Síndrome Urémico Hemolítico causado por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

DOCENTE/S A CARGO: Dra. Cristina Ibarra/ Dra. María Marta Amaral/ Dra. Flavia Sacerdoti

DIRECCIÓN O UBICACIÓN: Paraguay 2155 – 6º piso, M3 (Laboratorio de Fisiopatogenia)

REQUERIMIENTO: Motivación y curiosidad por el conocimiento científico. Es importante el conocimiento del idioma inglés y manejo de herramientas básicas de computación (Word, Excel).

Capacidades prácticas

- Obtener destreza en el manejo de material de laboratorio básico (pipetas, preparación de soluciones, buffers, pesadas)
- Cultivos de microorganismos
- Cultivos celulares
- Manejo de animales de laboratorio
- Manejo de microscopio óptico Las técnicas con las que podrá familiarizarse son: Biología molecular: Transformación de bacterias con plásmidos, cultivo bacteriano generalidades, expresión proteica, Western blot. Cultivo celular: cultivo general de células, inmunocitoquímica.

Búsqueda de información, bibliografía

Se incentivará a la búsqueda de trabajos científicos actualizados y a su discusión.

Capacidades teóricas y discursivas

Se trabajará el análisis crítico de los trabajos científicos en el área. Esto se logrará a través de la indicación de lectura y análisis de diferentes trabajos científicos para que el alumno lea e interprete. Asimismo, estará acompañado de la asistencia la discusión de trabajos científicos dictados quincenalmente en el laboratorio.

El estudiante deberá comprender cómo se diagrama un plan de investigación (Hipótesis, Objetivos, Materiales y Métodos, Resultados, Conclusión y Discusión)

PROGRAMA DE FORMACIÓN

El SUH típico es una patología asociada a las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) que afecta principalmente a niños menores de 5 años y se caracteriza por la tríada: anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y falla renal aguda.

Hoy en día, el SUH no cuenta con un tratamiento específico y la diálisis peritoneal es la terapia de sostén que logró disminuir la mortalidad por debajo del 4%. El tratamiento con antidiarreicos está contraindicado en niños con diarreas agudas porque prolonga la sintomatología y favorece la presencia y el pasaje intestinal de Stx2 a la circulación sistémica, en el caso de infecciones por STEC. Asimismo, el uso de

antibióticos ha generado controversias ya que se demostró que algunos de ellos agravan los síntomas de la infección porque aumentan la liberación de Stx.

Stx2 es responsable de la mayoría de los casos de SUH y su secuencia genética está codificada en fagos que pueden ser transferidos a otras *E. coli* enteropatogénicas no productoras de Stx2, como ocurrió cuando se produjo el brote de SUH del 2011 en Europa. Stx circula en sangre unida a plaquetas, neutrófilos, monocitos y microvesículas. Una vez que la toxina se une a su receptor Gb3 (globotriaosilceramida) en la célula blanco, es endocitada, lo que resulta en una inhibición irreversible de la síntesis de proteínas y un aumento de apoptosis.

Por otro lado, las herramientas diagnósticas actuales para la confirmación de la infección por STEC se basan en la identificación de la bacteria o la toxina en materia fecal. Este procedimiento microbiológico incluye el aislamiento bacteriano en medios selectivos, identificación bioquímica y serotipificación, lo que conlleva a limitaciones en cuanto a eficacia, plazos y costo. En este contexto, las nanopartículas (NPs) podrían ser utilizadas como una buena plataforma para diseñar materiales con propiedades antimicrobianas y de reconocimiento tanto de STEC como de Stx. En el presente plan de trabajo proponemos desarrollar NPs unidas a Gb3 con alta capacidad para captar la toxina en vistas de posibles agentes de tratamiento en pacientes con infección por STEC para evitar el desarrollo del SUH. Por otro lado, proponemos que estas NPs podrían ser utilizadas para el diagnóstico rápido de Stx2.

Proponemos desarrollar NPs micelares asociadas a Gb3 Stx2 y evaluar sus propiedades fisicoquímicas, estabilidad, capacidad de neutralización y de detección de Stx2 *in vitro*.

Con el propósito de utilizar las NPs como sistema de diagnóstico rápido de Stx2 se determinará la concentración óptima de NPs y Stx2 que produzca aglutinación medida por la técnica de DLS (se deberá observar un aumento en el tamaño de las NPs debido a la aglutinación). Se determinará la sensibilidad (límite de detección de Stx2) de la técnica ensayando sero albumina bovina (BSA) como control negativo y PBS como control de autoaglutinación. Se comparará la aglutinación con las NPs sin ligando. Se realizará una primera aproximación a la búsqueda de Stx2 en plasma de un modelo de rata de SUH puesto a punto en el laboratorio.

OBJETIVOS A CUMPLIR

- Interpretar, y analizar y adoptar una visión crítica hacia trabajos científicos actuales en el área de aprendizaje.
- Búsqueda de información, bibliografía.
- Que el alumno pueda realizar una búsqueda de bibliografía actualizada sobre una temática en particular. Asimismo, que tenga comprensión de los trabajos científicos y la capacidad crítica de analizarlos.
- Obtener destrezas básicas en el manejo de laboratorio. Participar y asistir a experimentos realizados durante su estadía en el laboratorio.
- Asistir a los seminarios quincenales del laboratorio y participar de reuniones y congresos nacionales

CARGA HORARIA: Dos o tres veces por semana (15 hs semanales totales)