

Españolas por el mundo: Becas FEMS 2015

Massiel Cepeda



Durante el proyecto de investigación de mi tesis doctoral en el CNB-CSIC he realizado técnicas ingeniería genómica para modificar con precisión y de forma múltiple a la bacteria *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) y así poder estudiar en detalle la patogénesis de este microorganismo. EPEC fue el primer patotipo de *E. coli* en ser asociado con la producción de infección en humanos. Las cepas EPEC son importantes productoras de diarrea, responsables de producir diarrea aguda y crónica en niños de corta edad (< 5 años). En los años 1940 y 1950 EPEC fue una causa importante de diarrea en los países desarrollados, pero hoy en día la infección por EPEC en estos países tiene una importancia limitada. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo EPEC sigue siendo una importante causa de diarrea infantil, representando entre el 30% y el 40% de los patógenos bacterianos productores de diarrea en los países de África y América del Sur.

EPEC esta dotada de genes que le permiten producir enfermedad, entre ellos los genes necesarios para el ensamblaje de un sistema de secreción tipo III (T3SS) que es utilizado por EPEC para inyectar proteínas efectoras dentro de los enterocitos. Estas proteínas efectoras son responsables de alterar las funciones de estas células hospedadoras a favor de la infección, generando una lesión a nivel de la microvellosidades del intestino delgado humano denominada lesión de unión y borrado, A/E (*Attaching and Effacing lesion*). La lesión A/E producida por EPEC y otros patógenos relacionados ha sido estudiada a profundidad, sin embargo la mayoría de estos estudios se han llevado a cabo mediante infecciones en líneas células humanas *in vitro*. Aun cuando estos estudios han dado una vasta información acerca de cómo se produce la lesión A/E, no existe una correlación exacta entre estudios *in vitro* y estudios *in vivo*.

Durante mi estancia de investigación financiada por la FEMS en el Imperial College de Londres, hemos infectado cultivos de órganos *in vitro* (IVOC - *in Vitro Organ Culture*) de biopsias intestinales humanas con diferentes cepas de EPEC, previamente generadas por mí mediante técnicas de delección múltiple del genoma. La finalidad de este trabajo ha sido investigar cuál es el conjunto mínimo de proteínas efectoras que se requieren para la formación de la lesión A/E en infecciones de intestino humano, las cuales son condiciones más cercanas a las naturales de la infección por EPEC. Infectamos biopsias humanas con dichas cepas de EPEC y analizamos la formación de la lesión A/E en las biopsias humanas mediante microscopía electrónica de barrido. Hemos encontrado que algunas de las cepas generadas, pese a ser capaces de infectar células HeLa *in vitro* e inducir la característica de acumulación de actina debajo de las bacterias unidas, eran incapaces de formar la lesión A/E en biopsias humanas. Estos resultados inesperados nos indican que algunos efectores que no son necesarios para la formación del pedestal de actina *in vitro* son esenciales para la formación de la lesión A/E en las superficies mucosas.

Gracias a la generosidad de la FEMS tuve la oportunidad de llevar a cabo este emocionante trabajo en el laboratorio del profesor Gad Frankel en el Imperial College de Londres. Fue una excelente experiencia personal y científica y de gran ayuda para completar mi trabajo de doctorado. Estos resultados serán publicados próximamente.

Kenny B. (2002). *Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) – a crafty subversive littlebug*. Microbiology. 148(7): 1967-78.

Nataro JP y Kaper JB (1998). *Diarrheagenic Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev 11: 142-201.

Lai Y, et al., (2013). *Intimate host attachment: enteropathogenic and enterohaemorrhagic Escherichia coli*. Cell. Microbiol. 15: 1796-808.

Hicks S, et al., (1998). *Role of intimin and bundle-forming pili in enteropathogenic Escherichia coli adhesión to pediatric intestinal tissue in vitro*. Infect. Immun. 66:1570-8.

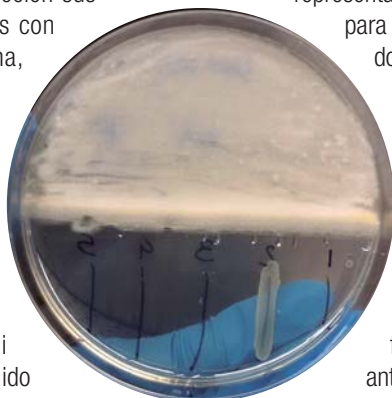
Españolas por el mundo: Becas FEMS 2015

Paulina Corral



Estimados socios y amigos de la SEM, me complace compartir mi experiencia durante mi estancia de investigación como becaria FEMS. Empezar cortos o largos viajes en pro de la ciencia deja siempre mucho que contar.

En esta ocasión me dirigí al Consejo Nacional de Investigaciones de Italia para desarrollar mi proyecto en el Instituto de Bioquímica de las Proteínas situado en Nápoles. El laboratorio de Drug Discovery se centra en la bioprospección de ambientes marinos extremos para la producción sustentable de compuestos con actividad antimicrobiana, antifúngica, antiparasitaria y anticáncer. Llegué a este sitio motivada por el potencial que los microorganismos halófilos poseen para sintetizar moléculas con actividades biológicas únicas. Desde mi tesis doctoral los he venido estudiando y considero que además de su gran importancia en la ecología microbiana, los halófilos son una mina



de compuestos bioactivos debido a las condiciones ambientales extremas en las cuales prosperan.

Mi proyecto consistió en realizar un screening *in vitro* de distintas cepas aisladas de ambientes marinos extremos para la búsqueda de moléculas con actividad antimicrobiana contra patógenos humanos multirresistentes a fármacos (MDR). La actual crisis antibiótica y el incremento de la resistencia microbiana

representan un problema emergente

para la salud pública, surgiendo la necesidad de desarrollar nuevos antibióticos.

Durante este estudio se obtuvieron centenares de cepas halófilas y halotolerantes aisladas de sedimentos abisales del mar Ártico y Antártico, todas ellas fueron sometidas a un test antagónico frente a un panel

de patógenos MDR. Varias cepas fueron capaces de inhibir totalmente el crecimiento de los patógenos diana y poste-



riormente los extractos crudos de estas cepas positivas mostraron un potente grado de inhibición a concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) muy bajas. Actualmente, se está realizando la identificación química de la molécula que es producida por una actinobacteria halófila y cuyo genoma se estudia para identificar los genes biosintéticos responsables de la actividad. Como todos los productos de origen natural se espera que se trate de una molécula innovadora y que no sea tóxica para el ser humano.

Los microorganismos halófilos tienen una gran proyección futura, a pesar de los avances en la síntesis química, la esperanza para resolver las infecciones recalcitrantes recae en la explotación de la biodiversidad, en este caso los ambientes extremos son un nicho prometedor cuya microbiota constituye un recurso sostenible. Se trata entonces de enfrentarse a un gran problema utilizando un arma microscópica, el verse socorrido por los microorganismos para resolverlo desafía toda regla.

En cuanto a mi experiencia fuera del laboratorio, Nápoles es una ciudad encantadora y llena de contrastes. Mientras te envuelven

los paisajes del golfo con el gran Vesuvio, de repente te ves abrumado entre el caos y la confusión, pero luego nuevamente recompensado por el cariño de la gente y por la presencia de un patrimonio cultural, artístico y gastronómico fascinantes. Me llamaba en particular la atención cómo todo se mueve con pericia y astucia, y no puedo evitar relacionarlo con los mecanismos de resistencia antibiótica. A la velocidad de una Vespa me vi adaptada a las circunstancias, las cuales hicieron que este período sea enriquecedor y fructífero.

