



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE MAGISTER EN BIOQUÍMICA Y BIOINFORMÁTICA

**Evaluación de Vacunas de ADN que Codifican para Genes  
Aislados desde la Isla de Patogenicidad LEE de *E. coli* STEC  
en el modelo murino**



Profesor Guía: Dr. Angel Oñate Contreras  
Dpto. de Microbiología  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

Tesis para ser presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad de  
Concepción

ALEJANDRA CAROLINA RIVERA CONCHA  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2010

## RESUMEN

*Escherichia coli* productora de Shigatoxina (STEC) son un grupo de patógenos emergentes a nivel mundial, con importantes factores de virulencia que facilitan la infección en el hombre. Dentro de los factores de virulencia que caracterizan las cepas de STEC está la producción de dos citotoxinas denominadas Shiga-like, Shigatóxinas o Verotóxinas (Stx1 y Stx2), responsables del daño observado en pacientes con síndrome hemolítico urémico (SHU). Sumado a las Shigatóxinas, también se ha descrito un elemento genético móvil denominado “locus enterocyte effacement” (LEE) que corresponde a una isla genómica de patogenicidad que codifica diversos genes involucrados en la adhesión bacteriana a la membrana de la célula epitelial, responsables de la esfacelación de las microvellosidades del epitelio. El rol de las proteínas secretadas de *E. coli* en la patogenicidad está bien documentada, y se ha registrado su acción en distintos tipos celulares.

El ganado, principalmente bovino, representa un importante reservorio para las cepas de *E. coli* STEC y muchas infecciones humanas son atribuibles al contacto con carne contaminada. Existe una gran variedad de estrategias de control propuestas para reducir la prevalencia de STEC en el reservorio animal, dentro de las cuales la vacunación con proteínas codificadas en el Locus LEE de este patógeno constituye una estrategia que ha presentado buenos resultados. De aquí que nuestro objetivo es evaluar la respuesta inmune protectora generada por la inmunización con vacunas ADN que codifican para proteínas identificadas en marcos de lecturas conservados de la Isla de Patogenicidad LEE en el modelo murino.

En este estudio, desarrollamos tres plásmidos que expresan los genes *efa1A*, *escR* y *sepD* codificados en el Locus LEE de STEC O157 y No-O157. La administración intranasal de estas vacunas con el liposoma catiónico AbISCO en ratones C57BL/6 produce respuesta inmune humoral y celular. Los animales inoculados con los genes *efa1A* y *escR* muestran una fuerte proliferación linfocitaria contra antígenos bacteriales. Además, observamos una disminución en la colonización intestinal por el patógeno en todos los animales inmunizados con los plásmidos recombinantes, después del desafío con *E. coli* EDL933,

donde los animales administrados con el vector pVAX-*efa1A* exhiben significativa actividad protectora. Estos resultados sugieren que la utilización de genes codificados en la isla LEE en la formulación de vacunas de ADN puede tener potencial como una vacuna para inducir inmunidad en ratones.

