

Designação do projeto | APTAcoli: NAM-aptameros para bloqueio de enterotoxinas na colibacilose em porcos

Código do projeto | PTDC/CVT-CVT/4620/2021

Objetivo principal | O objetivo principal deste projeto consiste em desenvolver uma terapia inovadora, com o recurso a aptameros, para o controlo da colibacilose suína. Assim, com este projeto pretende-se criar NAM-aptameros para bloquear as enterotoxinas produzidas por estirpes enterotoxigénicas de *Escherichia coli* (ETEC).

Região de intervenção | Nacional

Entidade beneficiária | Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.); Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD); International Iberian Nanotechnology Laboratory (INL)

Data da aprovação | 28/07/2021

Data de início | 01/01/2022

Data de conclusão | 30/09/2025

Custo total elegível | 249.647,91€ (INIAV – 165.755,80€)

Apoio financeiro total da União Europeia | Apoio OE | 249.647,91€ (INIAV – 165.755,80€)

Objetivos, atividades e resultados esperados

A colibacilose é uma doença comum em suínos, especialmente em leitões no período pós-desmame. É causada pela colonização do intestino delgado por estirpes enterotoxigénicas de *Escherichia coli* (ETEC) que fazem uso de fimbrias ou pili para aderir às células epiteliais do intestino. Uma vez aderidas, e aproveitando o sistema imunológico e microbiota intestinal pouco desenvolvidos, as ETEC produzem uma ou mais enterotoxinas que podem ter efeitos locais e, posteriormente, sistêmicos. Essas enterotoxinas provocam um desequilíbrio eletrolítico que leva ao aumento da secreção intestinal, o que resulta em diarreia, desidratação e acidose (Figura 1). O controlo da colibacilose em porcos recorreu, por muitos anos, a antibióticos e outras moléculas antimicrobianas aplicadas frequentemente de maneira preventiva como promotores de crescimento. Esta prática foi agora banida em vários países da criação de animais. Como tal, são necessárias novas estratégias para controlar a colibacilose em suínos. O bloqueio das toxinas, que são os principais fatores de virulência de ETEC, é uma estratégia promissora para combater a colibacilose. Isso pode impedir o

progresso da infeção e aliviar os sintomas, abrindo caminho para a recuperação do animal. O objetivo deste projeto consiste em desenvolver uma terapia inovadora, com o recurso a aptameros, para o controlo da colibacilose suína. Eles podem ser selecionados à la carte para alvos específicos usando um procedimento chamado SELEX, que recorre a vários ciclos de amplificação, seleção e partição de PCR (Figura 2). Aptameros são ácidos nucleicos de cadeia simples (ssDNA ou RNA) que possuem características de ligação únicas aos seus alvos, definidas pelo seu arranjo estrutural. Podem ser gerados para ligar uma grande variedade de moléculas, desde pequenas moléculas a proteínas multiméricas, pelo que têm um grande potencial na aplicação ao bloqueio de toxinas. Como moléculas antimicrobianas, o uso de aptameros tem várias vantagens em comparação aos antibióticos, como ação específica e síntese fácil através de uma simples reação de PCR. De forma a aumentar a estabilidade e tempo de residência no corpo, pretende-se modificar os aptâmeros com recurso a moléculas sintéticas que mimetizam ácidos nucleicos – ou mímicos de ácidos nucleicos (NAMs).

Neste contexto propomos a realização de um conjunto de ensaios com os seguintes objetivos específicos:

1. Seleção/desenvolvimento de NAM-aptameros específicos para toxinas ST (termoestáveis) e LT (termolábeis) de ETEC. Avaliação da estabilidade, afinidade e especificidade dos aptameros.
2. Desenvolvimento de uma estratégia de encapsulamento para garantir a estabilidade do aptâmero no ambiente gástrico, sendo libertado no lúmen intestinal.
3. Avaliação do desempenho dos aptameros encapsulados em linhas celulares intestinais derivadas de leitões.
4. Realização de ensaios *in vivo* com recurso a leitões como modelo de infeção.

Adicionalmente, pretende-se avaliar a prevalência e diversidade de ETECs em suiniculturas portuguesas. Os isolados e informação recolhidos serão usados para avaliar a performance e potencial da solução proposta.

Figuras em anexo:

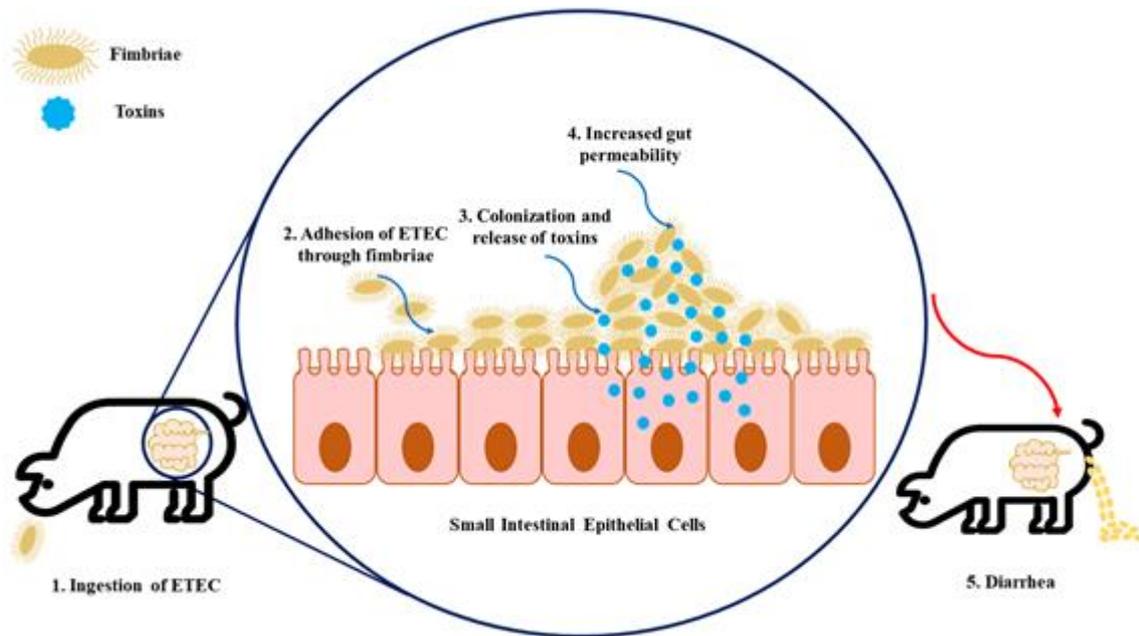


Figura 1

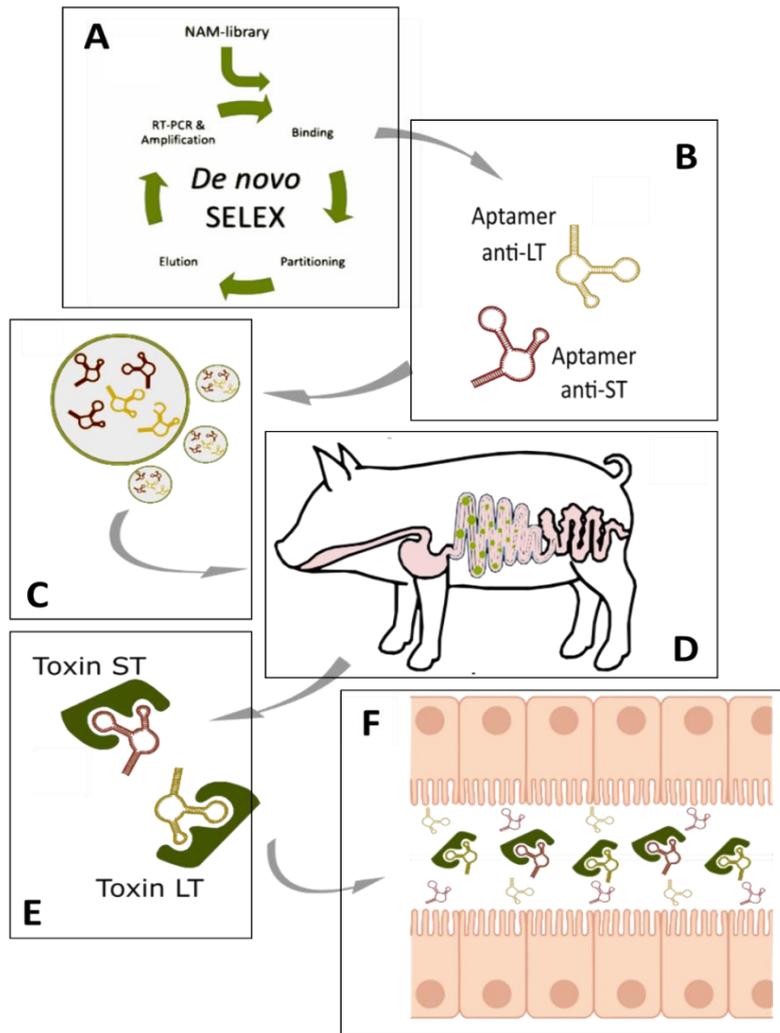


Figura 2