

Título de la propuesta:

PROCOLO PARA EL CULTIVO CELULAR A PARTIR DE PEZ CEBRA

Responsable: MIÑO Gastón L., gaston.mino@uner.edu.ar

Integrantes del Equipo: ESCURI GRAF Nicolás, MIÑO Gastón, SIGOT Valeria.

Unidad Académica: Facultad de Ingeniería - UNER

Situación Problemática: La investigación biomédica básica, con miras a la transferencia tecnológica, es una necesidad en el campo de la salud, pues muchas sustancias y procedimientos son evaluados para garantizar el beneficio de los pacientes. Sin embargo, existen limitaciones para realizar este tipo de investigación, debido a la alta inversión que demanda, especialmente la infraestructura y el cuidado que requieren los modelos animales tradicionales. El pez cebrá (*Danio rerio*) es un modelo animal emergente con muchas cualidades que lo posicionan como una alternativa atractiva en el área biomédica.

Desde la investigación traslacional tiene mucha potencialidad el desarrollo de técnicas que permitan testear medicamentos o biomateriales en las primeras etapas de desarrollo de un producto o que generen protocolos que aseguren la biocompatibilidad de éste. En particular, el establecimiento de cultivos celulares epiteliales a partir de la epidermis de peces adultos permitirá realizar estudios de absorción de medicamentos o dispositivos que estén en contacto con la piel. Para evitar la contaminación de los cultivos celulares, los protocolos incluyen el uso de antibióticos, lo cual puede ser perjudicial al originar cepas bacterianas con resistencia a estos medicamentos. Hallar alternativas al uso de antibióticos es fundamental para evitar la incidencia de estos.

Objetivos: Objetivo general: Diseñar e implementar un protocolo para obtener y establecer un cultivo celular a partir de tejido epidérmico de pez cebrá evaluando diferentes métodos de esterilización.

Objetivos específicos:

- A. Familiarizarse con materiales, equipos, metodologías e insumos necesarios para el manejo del cultivo celular.
- B. Adquirir habilidades en el manejo de cultivos de bacterias y de los peces cebrá.
- C. Determinar la metodología más adecuada para disminuir o eliminar el contenido bacteriano en cultivos mediante técnicas de esterilización.
- D. Elegir el método más adecuado para la obtención de las células de interés de la epidermis del pez cebrá.

Contactos:



inexa@uner.edu.ar



3442421518

- E. Evaluar la efectividad de los métodos de esterilización efectuados en bacterias en cultivos celulares obtenidos a partir del pez cebra.
- F. Establecer un protocolo para el cultivo celular a partir de tejido epidérmico de pez cebra.

Resultados alcanzados: Como alternativa al uso de antibióticos, se utilizó radiación UV. Dicho método de esterilización se caracteriza por tener una acción superficial con bajo poder de penetración. Para determinar la dosis de UV, se obtuvo una curva de Intensidad UV vs distancia para lámpara UVC G15T8 ($\lambda = 254 \text{ nm}$) utilizando un sensor UV GUVA-S12SD y una placa Arduino Pro Mini 328 de 5 V/16 MHz. La relación encontrada entre estas variables es $I \propto 1/r$ (I: Intensidad y r: distancia a la fuente) y por otro lado, se logró realizar con SolidWorks el modelado 3D del montaje para la medición y de la carcasa del sensor. A partir de diluciones en serie de cultivo líquido de *Staphylococcus aureus* y recuento en placa se relacionó el conteo de colonias con la absorbancia/transmitancia de las diluciones sembradas. Utilizando placas sembradas con diluciones seriadas, se irradiaron con distintas dosis de UVC (40, 204 y 612 mJ/cm^2) para determinar la efectividad germicida de la lámpara. Realizando cultivos de agua de pecera de pez cebra con medio Luria-Bertani se determinó la relación entre la reducción de concentración bacteriana presente en los mismos, midiendo su absorbancia, y la dosis UVC con la cual se los irradió, la cual se ajustó a una curva exponencial y permitió elegir la dosis mínima a utilizar para los cultivos celulares de pez cebra, ya que con dosis mayores a 207 mJ/cm^2 se obtuvieron porcentajes de reducción entre el 70 y 100%. Además, se observaron preparados en portaobjetos de microgotas de los cultivos de agua de pecera con microscopio de contraste de fase para relacionar las imágenes obtenidas con las dosis UVC utilizadas.

Contactos:

 inexa@uner.edu.ar

 3442421518