

# 2° Jornadas Latinoamericanas de Bacteriófagos

**22 Y 23 DE  
NOVIEMBRE DE 2022**

*Buenos Aires, Argentina*

**RESÚMENES DE  
PONENCIAS**



## INACTIVACIÓN DE BACTERIOFAGOS MEDIANTE UV PARA LA POSTERIOR EVALUACIÓN DE ENZIMAS FÁGICAS

JUÁREZ, A. E. (1); KRÜGER, A. (1); RODRIGUEZ, V. A.(1) ; D' ANGELO, C. (2); POMARICO J. A. (2); LUCCHESI, P. M. A. (1).

1. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-CIC-UNCPBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Buenos Aires, Argentina. [anajuarez@vet.unicen.edu.ar](mailto:anajuarez@vet.unicen.edu.ar)

2. Centro de Investigación en Física e Ingeniería del Centro de la Pcia de Buenos Aires (CIFICEN-CONICET-CIC-UNCPBA), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Buenos Aires, Argentina

La apremiante necesidad de desarrollar estrategias de control de bacterias alternativas al uso de antimicrobianos ha dado relevancia al empleo de bacteriófagos y enzimas fágicas. Para evidenciar la presencia de estas enzimas y otros componentes antibacterianos útiles para biocontrol, se requieren estrategias que permitan una evaluación de la actividad antibacteriana independiente de la replicación fágica. Se sabe que la luz ultravioleta (UV) daña los ácidos nucleicos impidiendo la replicación del ADN y la transcripción del ARN, lo que finalmente causa la inactivación de los microorganismos y, aunque otros componentes pueden resultar dañados, también pueden mantenerse actividades enzimáticas. En base a esto, el tratamiento con luz UV permitiría inferir la presencia de componentes con acción antimicrobiana. Nos propusimos como objetivo evaluar las condiciones necesarias para lograr la inactivación de bacteriófagos, aislados por nuestro grupo de trabajo, que presentan actividad lítica contra *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. Dado que la luz UV tiene limitada capacidad de penetrar en un líquido, colocamos 500 µl de la suspensión del fago L7.3 (stock de alto título fágico,  $\sim 1 \times 10^{10}$  UFP/ml) de manera que forme una capa muy delgada sobre las placas de Petri de vidrio utilizadas. Realizamos un primer ensayo en el que evaluamos 3 tratamientos con luz UV de una longitud de 254 nm a una intensidad de 0,041 W/cm<sup>2</sup> (T1: 5' de exposición sin agitación; T2: 20" de exposición sin agitación; T3: 1'40" de exposición realizando 2 agitaciones intermedias de forma manual) así como un control sin tratar (stock fágico colocado en placa de Petri sin exponer a luz UV). Se realizó un ensayo en doble capa de agar y un *spot test* para cuantificar los fagos que conservaron su infectividad, colocando diferentes diluciones de los fagos tratados y del control, empleando la cepa *E. coli* DH5α como hospedadora. Posteriormente, se realizó un nuevo ensayo con mayor tiempo de exposición a luz UV (5' 20 ") y agitaciones manuales cada 20" (T4). Se observaron disminuciones de ufp de  $\sim 2$  log por efecto del tratamiento T1, 1 log por T2 y  $\geq 9$  log por T3 y T4. En estos 2 últimos tratamientos, se observó efecto lítico sin presencia de placas de lisis con las menores diluciones de la suspensión tratada, en el ensayo de *spot test*. Este estudio permitió identificar tratamientos con luz UV eficaces para inactivar este fago y continuar detectando actividad lítica. Dadas las características de la luz UV, se destaca la importancia de la agitación durante el tratamiento.

**PALABRAS CLAVE:** LUZ UV, BACTERIÓFAGOS, ENZIMAS FÁGICAS, BIOCONTROL