



CIENCIA-ARTE-DESCUBRIMIENTO-DESARROLLO

XVI Congreso Argentino de Microbiología (CAM 2024)

V Simposio Argentino de Inocuidad Alimentaria

LIBRO DE RESUMENES

21 al 23 de agosto de 2024
Palais Rouge. Ciudad Autónoma de Buenos Aires,
Argentina



XVI Congreso Argentino de Microbiología / Marisa Almuzara... [et al.]; Compilación de
Marisa Almuzara: Oscar Taboga. - 1a ed - Ciudad Autónoma de Buenos Aires:
Asociación Argentina de Microbiología, 2024.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-48458-2-5

1. Microbiología. I. Almuzara, Marisa, comp. II. Taboga, Oscar, comp.
CDD 579.071

PUESTA A PUNTO DE ENSAYOS DE ADHERENCIA, INTERNALIZACIÓN Y SOBREVIDA EN AISLAMIENTOS BOVINOS DE *Streptococcus agalactiae*

Banchiero MJ 1 ; Nieto V 1; Tiraboschi G 2 ; De Lillo MF 2 ; Bohl LP 2 ; Cadona J 1; Sanso AM 1

1: Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología. CIVETAN (CONICET). Facultad de Ciencias Veterinarias-UNCPBA. Tandil, Argentina. 2: Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB-CONICET), Instituto de Ciencias Básicas y Aplicadas-UNVM Villa María, Argentina.

Streptococcus agalactiae es uno de los patógenos más frecuentemente asociado con mastitis bovina. Esta bacteria puede colonizar el epitelio mamario y producir factores de virulencia que afectan la función fisiológica de las células epiteliales, implicados en la invasión, la adhesión y la respuesta inmunitaria. Considerando que en la patogenia de la infección por *S. agalactiae* existen dos pasos críticos, que son la adhesión y la invasión de las células huésped, y dado que no hay estudios que caracterizan estos procesos, el objetivo fue poner a punto las técnicas para estudiar la interacción *S. agalactiae*-célula epitelial mamaria para luego, proponer terapias para impedir o mitigar la infección por *S. agalactiae*.

Se analizaron dos cepas de *S. agalactiae* aisladas de vacas lecheras con mastitis de la Cuenca Mar y Sierras (B49 y B63). Se utilizó la línea celular bovina de células alveolares mamarias (MAC-T). En el caso de los ensayos de adherencia, en una placa de 96 pocillos se co-cultivó durante 2 h una suspensión bacteriana con una monocapa confluyente de células MAC-T en DMEM a una multiplicidad de infección (MOI) de 10:1 Posteriormente, se descartó el medio de cultivo de la placa y se realizaron lavados con PBS. Se lisaron las células con Triton X-100 (0,025% v/v) para liberar bacterias intracelulares. Se realizaron diluciones seriadas, se sembraron por triplicado en placas de TSA y se incubaron a 37 °C durante 24 h para determinar las UFC por pocillo. En el caso de los ensayos de internalización, el co-cultivo se trató con gentamicina (100 µg/ml) en DMEM a 37°C, durante 2 h para eliminar las bacterias extracelulares. Antes de descartar los sobrenadantes, alícuotas de 5 µL del mismo se sembraron en placas con TSA y se incubaron a 37 °C durante 24 h para comprobar la efectividad del tratamiento con gentamicina. Las monocapas se lavaron con PBS y se lisaron con Triton X-100. Los lisados se diluyeron serialmente 10 veces, se sembraron por triplicado en TSA y se incubaron *overnight* a 37°C. Para el ensayo de sobrevivida, el co-cultivo se trató con gentamicina 0,01 mg/mL.

Los resultados obtenidos muestran que la cepa B63 se adhiere, pero no internaliza en las células MAC-T, mientras que la cepa B49 se adhiere e internaliza en las células epiteliales mamarias y, además, sobrevive en las mismas luego de 24 h de incubación.

La puesta a punto del ensayo resultó exitosa y, mostró diversidad en cuanto a la capacidad de *S. agalactiae* de internalizar y sobrevivir en tejido mamario. Las cepas utilizadas para los ensayos fueron obtenidas de diferentes tambos y presentaban distintos serotipos, perfiles de virulencia y resistencia a antibióticos. A pesar de que las cepas ensayadas fueron sólo dos, los resultados muestran que distintas cepas de este patógeno pueden interaccionar de diferente manera con las células epiteliales del hospedador, lo que pone en evidencia la importancia de estudiar los factores de virulencia involucrados.