

## XIV Congreso Argentino de Microbiología General (XIV SAMIGE)

PEZZONI, Magdalena<sup>1</sup> | DE TROCH, Marleen<sup>2</sup> | PIZARRO, Ramon A<sup>1</sup> | COSTA, Cristina S<sup>1</sup>

COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA - CENTRO ATÓMICO CONSTITUYENTES<sup>1</sup>; UNIVERSIDAD DE GANTE (GHENT UNIVERSITY, BELGICA)<sup>2</sup>

**Introducción y Objetivos:** La radiación ultravioleta A (UVA; 315-400 nm) es un importante factor de estrés ambiental que las bacterias deben enfrentar en la naturaleza. Cuando las mismas son expuestas a este tipo de radiación en presencia de oxígeno, se generan especies reactivas (ROS) capaces de generar daño a macromoléculas. *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno oportunista de humanos que también puede ser encontrado en múltiples ambientes, es muy utilizado como modelo de estudio por su versatilidad y capacidad de adaptación a diversos factores de estrés. La membrana de las bacterias juega un rol fundamental en la sobrevivencia de las mismas creando una barrera entre las células y el medioambiente. Estudios previos han reportado que los ROS son capaces de modificar la composición de los ácidos grasos de las membranas bacterianas, afectando así sus propiedades biofísicas (fluidez, flexibilidad) y, consecuentemente, la eficiencia de las funciones dependientes de las mismas. Con el propósito de analizar posibles adaptaciones a la radiación, se analizó el efecto de dosis subletales de UVA en la composición de los ácidos grasos de membrana en *Pseudomonas aeruginosa*.

**Materiales y Métodos:** Se obtuvieron cultivos de la cepa PAO1 crecidos bajo dosis subletales de UVA o en oscuridad (control). En diferentes etapas de cultivo (DO650 0.1, DO650 0.3 y a las 24 h) se tomaron alícuotas que, previa liofilización, se sometieron a un proceso de extracción lípidica y posterior análisis de ácidos grasos. Este procedimiento fue realizado por el Grupo de Investigación de Biología Marina de la Universidad de Gante (Ghent University, Bélgica)

**Resultados:** El perfil de ácidos grasos obtenido a partir de células crecidas bajo UVA hasta fase logarítmica temprana (DO650 0.1) no presentó cambios respecto del control: 49 % corresponde a ácidos grasos insaturados y 41 % a ácidos grasos saturados. En extractos de células crecidas bajo UVA hasta fase logarítmica más avanzada (DO650 0.3), se observó un incremento significativo de los ácidos grasos insaturados (53%) respecto del control (49%) ( $p < 0.01$ ). A su vez el tratamiento produjo una disminución de los ácidos grasos saturados (40%) comparando con el control (42,5 %) ( $p < 0.01$ ). Por el contrario, cuando las células fueron expuestas a la radiación UVA durante 24 h no se observaron cambios significativos respecto de los controles en cuanto a los porcentaje de ácidos grasos saturados (44 % UVA, 43% control) e insaturados (46% UVA, 48% control).

**Conclusiones:** -El crecimiento a bajas dosis de UVA es capaz de modificar el perfil de los ácidos grasos de la membrana de *Pseudomonas aeruginosa*. -La exposición a bajas dosis de UVA incrementa el porcentaje de ácidos grasos insaturados durante la fase logarítmica de crecimiento. -Dado que altas dosis de radiación generan daño a membrana (aumento de rigidez y permeabilidad), un incremento del porcentaje de ácidos grasos insaturados por exposición a dosis subletales sería ventajoso por su capacidad de otorgar mayor fluidez a la misma.

JU 225

### 0636 - APROXIMACIÓN PROTEÓMICA PARA EL ESTUDIO DEL METABOLISMO DE LOS POLIHIDROXIALCANOATOS EN DISTINTAS CONDICIONES DE CULTIVO EN *PSEUDOMONAS EXTREMAUSTRALIS*: EFECTO DE LA RELACIÓN C/N Y LA AIREACIÓN.

BRITO, María Gabriela | LÓPEZ, Nancy Irene

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET

**Introducción y Objetivos:** Los polihidroxicanoatos (PHA) son polímeros de reserva de interés como plásticos biodegradables. Según el monómero que los compone se clasifican en PHA de cadena corta (PHAcc: C3-C5) y de cadena media (PHAcM: C6-C16). *Pseudomonas extremaustralis* puede sintetizar PHAcc, particularmente polihidroxiobutirato (PHB), y PHAcM. El objetivo del trabajo consistió en el análisis del efecto de la relación C/N y de distintas condiciones de aireación en el metabolismo de los PHA en *P. extremaustralis* mediante un enfoque proteómico.

**Materiales y Métodos:** Los cultivos se realizaron en medio LB y 0.5NE<sub>2</sub>, que favorece la acumulación de PHA, suplementados con octanoato de sodio (O) con relaciones C/N de 3,7 (LB), 4,5 (LBO) y 8,5 (NEO), en distintas fases de crecimiento (exponencial vs. estacionaria) y condiciones de aireación (aerobiosis vs. microaerobiosis). Las células se cosecharon y se sonicaron. Los extractos proteicos se sembraron en geles de poliacrilamida y las proteínas totales se analizaron en un nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masa EASY-nLC 1000 en el CEQUIBIEM (FCEN-UBA). Las proteínas con expresión diferencial se determinaron utilizando el programa Perseus y otras herramientas informáticas. Se compararon los perfiles proteicos en varias condiciones: 1. LBO vs. NEO, fase estacionaria, aerobiosis; 2. NEO, fase exponencial vs estacionaria, aerobiosis; 3. NEO, fase estacionaria, aerobiosis vs. microaerobiosis y 4. LBO vs LB, fase estacionaria, aerobiosis. La producción de PHA se cuantificó por cromatografía gaseosa previa metanólisis.

## XIV Congreso Argentino de Microbiología General (XIV SAMIGE)

**Resultados:** Se identificaron entre 1.100 y 1.350 proteínas. El análisis de la expresión diferencial entre condiciones permitió detectar cambios en proteínas involucradas en el metabolismo de los PHA y otras vías relacionadas. Se identificaron alrededor de 200 proteínas con expresión diferencial (sobre-expresadas + reprimidas) en todas las condiciones. En la condición 1 entre las significativamente sobre-expresadas en LBO, se destacan la sintasa de PHB (PhbC), la acetil-CoA acetiltransferasa y la 3-cetoacil-ACP reductasa mientras que las proteínas asociadas a la síntesis de los PHAcM se encontraron reprimidas en LBO. En la condición 2, en fase exponencial no se detectaron proteínas relacionadas con la síntesis de PHA. En la condición 3 en aerobiosis se encontraron diferencialmente sobre-expresadas PhbX, PhaP, PhaF relacionadas con la síntesis de PHAcC, además de una enoil acil-reductasa. En la condición 4 se encontraron sobre-expresadas en LBO a PhbX, PhbC, Pta, como también la 3-cetoacil-CoA tiolasa y la PhaP.

**Conclusiones:** El aumento en la relación C/N incrementó la expresión de las proteínas involucradas en la producción de PHAcM. Los niveles de expresión fueron mayores en fase de crecimiento estacionario y aerobiosis para ambos tipos de polímeros. Se observaron pocas proteínas relacionadas con la producción de PHA en microaerobiosis respecto de aerobiosis.

### JU 226

#### 0665 - ESTUDIO PRELIMINAR DEL ROL DEL HIERRO EN LA PATOFISIOLOGIA DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICA O157:H7

MARQUES DA SILVA, Wanderson | RIVIERE, Nahuel | LARZABAL, Mariano | CATALDI, Angel

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, INTA-CONICET

**Introducción y Objetivos:** *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 es un patógeno zoonótico responsable de la colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico en humanos. Durante el proceso de infección este patógeno es sometido a diferentes condiciones de estrés, como por ejemplo el estrés nutricional relacionado con la escasez del hierro. Estudios han demostrado que el hierro es requerido para el crecimiento bacteriano y su biodisponibilidad juega un rol importante en la patogénesis de diferentes patógenos. Diferentes sistemas específicos de adquisición de hierro ya fueron caracterizados en EHEC, sin embargo pocos estudios fueron realizados para evaluar como la biodisponibilidad de este metal podría influir en su fisiología y patogénesis. El principal objetivo de este trabajo es evaluar el rol del hierro tanto en la fisiología como en procesos que contribuyan en la patogénesis de EHEC O157:H7.

**Materiales y Métodos:** En este estudio se utilizó la cepa EHEC O157:H7 Rafaela II aislado de un bovino en Argentina la cual fue previamente secuenciado su genoma. La bacteria fue cultivada en medio DMEM suplementado con hemina (10 µM) o DMEM conteniendo el agente quelante de hierro 2'2'-bipyridyl (BPD) (130 µM), a 37 °C, 200 rpm. Curvas de crecimiento bacteriano fueron hechas para evaluar como las diferentes condiciones influyen en el crecimiento de EHEC. Para evaluar la formación de biofilm, adhesión celular y motilidad celular se utilizaron los ensayos de micro placa, adhesión en células epiteliales CACO-2 y soft agar (0.3%), respectivamente. La actividad del sistema de secreción de tipo 3 (SST3) fue evaluada a través de ensayos de lisis de glóbulos rojos a partir de eritrocitos ovinos y mediante la técnica de western blotting.

**Resultados:** A través del análisis de las curvas de crecimiento bacteriano fue posible demostrar que la adición de hemina al medio de cultivo incrementó el crecimiento de EHEC, sin embargo, la presencia del quelante de hierro BPD disminuyó su crecimiento. Cuando evaluamos la formación de biofilm bacteriano, adhesión celular en células CACO-2 y motilidad celular, se observó una menor formación en la capacidad de formar biofilm y disminución tanto en el proceso de adhesión como en la motilidad celular cuando la cepa fue cultivada en el medio DMEM suplementado con hemina respecto a la cepa cultivada en DMEM con BPD. Finalmente, se evaluó la actividad del SST3 de EHEC en respuesta a biodisponibilidad de hierro. En el ensayo de lisis de glóbulos rojos demostramos que la actividad hemolítica del SST3 se incrementó en presencia de hemina. Además fue posible detectar mediante western blotting que la proteína efectora EspA fue más expresada cuando EHEC fue cultivada en presencia de hemina.

**Conclusiones:** A través de estos ensayos preliminares es posible demostrar que el hierro ejerce un rol en algunos procesos relacionados tanto en la fisiología cuanto en la patogénesis de EHEC O157:H7.

### JU 227

#### 0425 - ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIBIOFILM DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOSINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE *BOTHRIOCHLOA LAGUROIDES* CONTRA CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

TORANZO, Araceli<sup>1</sup> | PAEZ, Paulina<sup>2</sup> | LUCERO ESTRADA, Cecilia<sup>3</sup>