

LIBRO DE RESUMENES

**XV Congreso Argentino de Microbiología
(CAM 2019)**

**V Congreso Argentino de Microbiología de
Alimentos
(V CAMA)**

**V Congreso Latinoamericano de Microbiología
de Medicamentos y Cosméticos
(CLAMME 2019)**

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

Asociación Argentina de Microbiología (AAM)

25 a 27 de septiembre de 2019
Golden Center Eventos
Int. Cantilo e Int. Güiraldes s/n.
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

ISBN 978-987-46701-5-1



9 789874 670151

V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos (CAMA 2019)

relacionadas al mal funcionamiento del sistema fibrinolítico natural (plasminógeno/plasmina), encargado de disolver coágulos de sangre en condiciones fisiológicas normales. Se ha observado que algunos Agaricomycetes secretan al medio extracelular enzimas con actividad fibrinolítica, lo cual ofrece una ventaja a la hora de su recuperación y purificación. Nuestro grupo de trabajo ha evaluado la capacidad de producir dichas enzimas en 35 cepas de Agaricomycetes nativas de Misiones, presentando actividad tres de ellas: *Schizophyllum commune* LBM 223, *Schizophyllum commune* LBM 026 y *Perenniporia martius* LBM 224. Las mismas fueron seleccionadas con el fin de optimizar los parámetros de cultivo para la producción enzimática de interés. El objetivo de este trabajo fue reducir el número de componentes del medio de cultivo para facilitar la purificación de las enzimas fibrinolíticas y aminorar los costos de producción a gran escala.

Materiales y Métodos: Se utilizó el método de un factor a la vez y se probaron tres fuentes de nitrógeno (peptona de carne, peptona de soja y nitrato de sodio) y una fuente de carbono (glucosa). Para todos los medios de cultivo se utilizó una solución con trazas de sales (en g/L): NaCl 2; KH₂PO₄ 0,5 y MgSO₄•7H₂O 0,5. Se inoculó un taco de 7 mm Ø cubierto de micelio joven en 20 mL de medio de cultivo líquido y se incubó a 28 °C. El sobrenadante se separó del micelio por centrifugación a 6000 x g por 10 min. Se determinó la actividad fibrinolítica a los 7, 14 y 21 días mediante el método de placas de fibrina de Astrup & Mullertz (1952). Los resultados se analizaron con Statgraphics plus de Windows 5.1, Prisma 5.0. (ANOVA simple).

Resultados: Se compararon los halos de degradación de fibrina de las 3 cepas para los días ensayados, y se observó que *P. martius* LBM 224 presentó halos de lisis significativamente mayores ($49,86 \pm 1,19 \text{ mm}^2$) ($P < 0,05$) en el medio 1 (peptona de carne 5 g/L, glucosa 35 g/L) a los 21 días de cultivo. Para *S. commune* LBM 223 la mayor actividad se registró a los 7 días de cultivo en medio 2 (peptona de soja 5 g/L, glucosa 35 g/L) y medio control (peptona de carne, peptona de soja 5 g/L, glucosa 35 g/L), con halos de $39,49 \pm 2,89 \text{ mm}^2$ y $40,91 \pm 1,40 \text{ mm}^2$ respectivamente, sin presentar diferencias significativas entre ambos ($P \geq 0,05$). En el caso de *S. commune* LBM 026, el medio que produjo mayores halos ($39,93 \pm 4,35 \text{ mm}^2$) fue el medio control a los 14 días de cultivo.

Conclusiones: A partir de estas observaciones, se seleccionaron el medio 1 para *P. martius* LBM 224 y el medio 2 para *S. commune* LBM 223, por ser los más aptos para la producción de enzimas fibrinolíticas, con menores concentraciones de peptona con respecto al medio control, facilitando así la purificación de la enzima de interés y reduciendo los costos de producción a gran escala.

CAMA - Metabolitos microbianos

VI 167

0334 - IMPACTO FUNCIONAL DEL EXOPOLISACÁRIDO (EPS) PRODUCIDO POR LA CEPA AUTÓCTONA *LACTOBACILLUS FERMENTUM* LF2: ENSAYOS *IN VIVO* E *IN VITRO*

ROJAS, Ma. Florencia | CORREA OLIVAR, Gabriela | ALE, Elisa | REINHEIMER, Jorge A. | BINETTI, Ana

INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL (INLAIN, UNL-CONICET)

Introducción y Objetivos: *L. fermentum* LF2 es una cepa autóctona capaz de producir 2 g/L de un extracto de exopolisacáridos (EPS) bajo condiciones optimizadas, rendimiento significativamente mayor al informado para otras bacterias lácticas. Está compuesto principalmente por un heteropolisacárido ($8,8 \times 10^4$ Da) formado por glucosa y galactosa, y un β -glucano ($1,23 \times 10^6$ Da). El objetivo del presente trabajo fue estudiar, a través de ensayos *in vitro* e *in vivo*, las propiedades funcionales de este extracto.

Materiales y Métodos: El EPS se extrajo a partir del sobrenadante mediante precipitación alcohólica. Para los ensayos *in vitro* se utilizó la línea celular THP-1 y células mononucleares de sangre periférica. Las citoquinas e IgA se midieron por ELISA. Para los ensayos *in vivo* se utilizaron ratones BALB/c, a los que se les administró cada tratamiento por intubación gástrica (300 μ l/ratón). Se cuantificaron los ácidos grasos de cadena corta por HPLC y los distintos grupos microbianos por qPCR (ambas determinaciones a partir de heces).

Resultados: El primer ensayo *in vitro* consistió en estudiar el efecto del extracto sobre la línea celular THP-1, utilizando 60 μ g/mL del extracto de EPS crudo (0,9% de proteínas) y 12,6 μ g/mL de extracto purificado (se recupera un 21% de EPS luego de la purificación). Como control positivo se incluyó LPS (0,5 μ g/mL) y como negativo, células sin tratar. El extracto purificado disparó los niveles de la citoquina TNF-alfa, alcanzando niveles similares al control positivo y superando los niveles determinados para el control negativo y el EPS crudo ($p < 0,05$). Con respecto a IL-6, en todos los casos los niveles fueron significativamente menores a los obtenidos para el control LPS. Por otro lado, ambas formas de EPS presentaron niveles significativamente más altos de la citoquina reguladora IL10. El segundo ensayo *in vitro* consistió en estudiar el efecto del β -glucano sobre células mononucleares de sangre periférica, el cual demostró prevenir efectos proinflamatorios desencadenados por LPS, ya que aquellas células que habían sido expuestas por 24 h al β -glucano (100 μ g/mL) y a las que luego se las lavó para enfrentarlas a LPS, presentaron bajos niveles de TNF-alfa, sugiriendo un rol inmunomodulador. Por otro lado, ensayos *in vivo* (ratones BALB/c) evidenciaron diversos efectos beneficiosos, demostrándose que el extracto de EPS, cuando se adiciona a matrices lácteas (yogur o leche) es capaz de prevenir una infección por *Salmonella* serovar Typhimurium en una concentración de 600 mg/L, además de

V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos (CAMA 2019)

augmentar los niveles de IgA en fluido intestinal a y reducir los niveles de IL-6 en intestino delgado, en una concentración de 300 mg/L. Asimismo, este extracto (600 mg/L) en yogur fue capaz de producir un aumento significativo de ácidos grasos de cadena corta en heces (por HPLC), específicamente de los ácidos acético y butírico, asociados a un rol prebiótico. Este efecto se vio relacionado a un aumento del *cluster Clostridium coccooides* productor de estos ácidos, determinado por qPCR. Cuando se combinó este extracto con la cepa probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 (5×10^8 UFC/mL), se observó un efecto bifidogénico durante el tratamiento que no se apreció para aquellos ratones tratados solo con la bifidobacteria.

Conclusiones: Todos estos estudios en conjunto señalan el potencial de este EPS para otorgar diversos roles funcionales cuando se lo utiliza como ingrediente alimentario, en concentraciones factibles de aplicar en la industria y posibles de obtener teniendo en cuenta su relativamente elevado rendimiento.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

VI 168

0455 - EMPLEO DE CEPAS PROBIÓTICAS DE *LACTOBACILLUS* PARA INCREMENTAR EL POTENCIAL FUNCIONAL EN UN YOGUR FORTIFICADO CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS

BOCKOR, Sabrina Sol¹ | FINA MARTIN, Joaquina¹ | PALOMINO, María Mercedes¹ | GORDILLO, Tania¹ | PALUMBO, Clara Miranda¹ | RUZAL, Sandra¹ | PEGA, Juan Franco² | ALLIEVI, Mariana Allievi¹

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUBICEN CONICET¹; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CIA, INTA. CONICET²

Introducción y Objetivos: En Argentina, el yogur es el alimento elegido preferentemente para vehicular cepas probióticas a los consumidores. Para alcanzar los beneficios en la salud una cantidad mínima de probióticos y aunque no son necesarios en el desarrollo, se agregan desde el inicio. Hemos optimizado un modelo experimental basado en prototipos de yogur a escala miniatura donde se co-cultivan cepas iniciadoras y probióticas para evaluar supervivencia y modificaciones en las cepas de *Lactobacillus* empleadas. Los ácidos grasos omega-3 de cadena larga de origen marino (EPA y DHA), son micronutrientes con evidencia científica para prevención o tratamiento de diversas patologías. No obstante, no existen datos sobre las interacciones entre ellos y las bacterias probióticas en alimentos funcionales. En este trabajo se buscó evaluar la supervivencia de cepas probióticas de *Lactobacillus* (*L.*) durante el almacenamiento del alimento y el efecto de EPA y DHA sobre la supervivencia de cepas probióticas en el yogur, determinando la concentración máxima que puede ser utilizada sin descenso de valores requeridos. Adicionalmente, se analizaron características de la envoltura bacteriana, en particular la proteína S-layer, en el crecimiento en el medio yogur, debido a que la envoltura bacteriana es el primer sensor ambiental.

Materiales y Métodos: Para la elaboración de los yogures, se inoculó con 1×10^6 UFC/ml de cada cultivo iniciador y de cada uno de los probióticos *L. kefir*, *L. casei* y *L. acidophilus* en medio leche (4 hs a 42°C). La supervivencia de cepas probióticas de *Lactobacillus* fue determinada mediante técnica de recuento de células viables en placa de medios diferenciales: M17 + lactosa 0,5% (*Streptococcus thermophilus*), MRS ácido (pH 5,3) (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), FMRS (medio base MRS) + maltosa 4% (*L. acidophilus* y *kefir*), manitol 4% (*L. casei*).

Resultados: Como resultado, los cultivos iniciadores no se vieron afectados por la presencia de los probióticos. Los valores de sobrevivencia de *L. kefir* y *casei* fueron cercanos a 1×10^7 UFC/ml, dosis recomendada para ingerir probióticos y no descendió al día 28. A diferencia de lo ocurrido *L. kefir*, *L. acidophilus* sufrió un descenso marcado de la supervivencia. Mediante SDS-PAGE de preparaciones de proteínas S-layer de *L. acidophilus* y *L. kefir* crecidas en medio MRS y en los prototipos de yogur, se observó que la proteína S-layer de *L. acidophilus* corresponde a la Slp X, sintetizada en condiciones de estrés, lo que evidenciaría que el microorganismo utiliza sistema de recambio de S-layer para adaptarse a un medio estresante. Tanto *L. casei* como *L. kefir* sobrevivieron al agregado de aceite hasta 10000 mg/ 200 g de yogur.

Conclusiones: Con este trabajo se generaron prototipos de yogur en los que se pudo evaluar componentes de la envoltura que participan en la adaptación. Además, se elaboraron alimentos funcionales conteniendo probióticos y omega-3 en las concentraciones preventivas recomendadas.

VI 169

0750 - *BACILLUS SUBTILIS*, UN PROBIÓTICO NOVEDOSO QUE MODULA LA RESPUESTA INMUNE Y PARÁMETROS METABÓLICOS. ESTUDIO PRECLÍNICO EN RATÓN

ARGAÑARAZ, Federico¹ | MARQUEZ, Maria Antonela² | BAUMAN, Carlos¹ | GAUFFIN, Paola² | GRAU, Roberto¹