

USO DE PEPTIDOGLUCAN HIDROLASAS RECOMBINANTES PARA LA ELIMINACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Katya Paola Ibarra Domínguez, Amelia Farrés. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Alimentos y Biotecnología, Ciudad de México, 04510, k.ibarra864@gmail.com

Palabras clave: biopelículas, peptidoglucan hidrolasa, *Pediococcus acidilactici*.

Introducción. Las biopelículas formadas por patógenos son un problema permanente en la industria alimentaria. Los tratamientos químicos y con antibióticos presentan el problema de generar efectos adversos o de ineficacia por la creciente resistencia a los antibióticos. Un tratamiento alternativo es el uso de enzimas líticas para desestabilizar la biopelícula al hidrolizar el peptidoglucano de las bacterias que la componen (1).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la eliminación de biopelículas en poliestireno mediante tratamiento enzimático con las peptidoglucan hidrolasas (PGH) recombinantes de *P. acidilactici* ATCC 8042. Tras evaluar la formación de biopelículas en varias especies, se seleccionó como modelo de trabajo *Listeria innocua*.

Metodología. La determinación de las condiciones óptimas de formación de biopelículas se realizó de acuerdo a Cáceres et al. (2). Para el tratamiento enzimático se ocuparon las distintas concentraciones de proteína (µg/mL) de las enzimas recombinantes. La evaluación se realizó a las 24 h al cuantificar la biomasa total (0.5%) (3) y las células viables con MTT (5 mg/mL) (4). Las enzimas recombinantes AMI 123 y GLU 32 son producidas en medio LB con ampicilina, previamente clonadas y expresadas en *E. coli* Rosetta, usando pET-22b(+) como vector de clonación e IPTG como inductor. El peso molecular se visualizó en SDS-PAGE y la actividad lítica en zimogramas contra *Micrococcus lysodeikticus*. Además, se realizó la caracterización bioquímica del extracto respecto a la temperatura, pH y iones de acuerdo al ensayo espectrofotométrico de N-acetilglucosaminidasa y N-acetilmuramoi-L-alanina amidasa.

Resultados. Las enzimas recombinantes AMI 123 y GLU 32 mostraron un peso molecular de 65 kDa y 51 kDa, respectivamente (Fig.1). La condición óptima de formación de la biopelícula de *L. innocua* se muestra en la tabla 1. Se evaluó el efecto de las PGH recombinantes contra la biopelícula de *L. innocua* (Fig. 2), encontrando mayor degradación con 200 µg/mL de proteína.

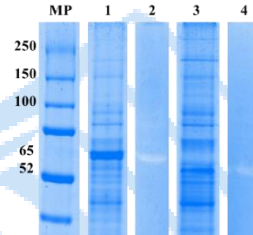


Fig. 1. Expresión de las proteínas recombinantes AMI 123: 1. SDS-PAGE y 2. Zimograma vs *M. lysodeikticus* y GLU 32: 3. SDS-PAGE y 4. Zimograma vs *M. lysodeikticus*

Tabla 1. Condición óptima de biopelícula de *L. innocua*

Medio de cultivo	Temperatura de incubación	Tiempo de incubación
BHI + 5% sac	37°C	24 h

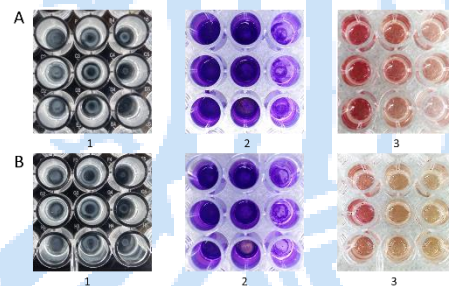


Fig. 2. Tratamiento enzimático contra biopelícula de *L. innocua* 1. Sin teñir, 2. Ensayo con cristal violeta 0.5%. 3. Ensayo con MTT (5 mg/mL) de las enzimas recombinantes A) AMI123 y B) GLU 32.

Conclusiones. Las enzimas recombinantes de *P. acidilactici* ATCC 8042 provocan destrucción de las biopelículas de *L. innocua* en superficies de poliestireno.

Agradecimiento. PAIP 5000-9095 Facultad de Química, UNAM. Conacyt beca CVU 1146260. PAEP.

Bibliografía.

1. Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2018). *Front Microbiol.* Vol 9: 898.
 2. Cáceres, M. E., Etcheverría, A. I., & Padola, N. L. (2019). *Rev. Argent.*, Vol 51(3): 208–213.
 3. Stepanovic, S., Vukovic, D., Dakic, I., Savic, B., & Svabic-Vlahovic, M. (2000). *J. Microbiol Methods*, Vol 40(2): 175–179.
 4. Stiefel, P., Rosenberg, U., Schneider, J., Mauerhofer, S., Maniura-Weber, K., & Ren, Q. (2016). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol 100(9): 4135–4145.