

EFFECTO DE LA FIJACIÓN CON GLUTARALDEHÍDO EN LAS PROPIEDADES NANOMECÁNICAS DE BORDETELLA PERTUSSIS

María Inés Villalba (1), Laura Arnal (1), Natalia Cattelan (1), Federico Castez (2), Osvaldo Yantorno (1), María Elena Vela (2).

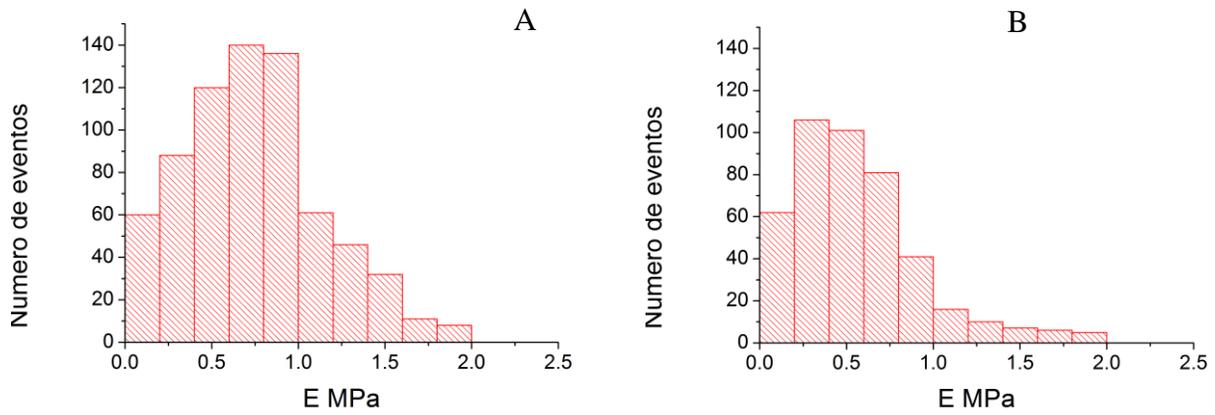
(1) Centro de Investigaciones y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), CCT La Plata, CONICET, UNLP. La Plata, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), CCT La Plata, CONICET - Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. La Plata, Argentina.
Email: mevela@inifta.unlp.edu.ar

Bordetella pertussis es el agente causal de la tos convulsa, enfermedad infecciosa del tracto respiratorio humano considerada actualmente una enfermedad re-emergente. A pesar de la alta tasa de vacunación a nivel mundial, los casos de tos convulsa siguen siendo alarmantes. *B. pertussis* es una bacteria Gram negativa que tiene la capacidad de crecer adherida a sustratos bióticos y abióticos formando biofilm y se postula que esta forma de vida podría permitirle a la bacteria persistir en el hospedador; por consiguiente es importante comprender el rol de las proteínas de membrana respecto a la capacidad de adhesión mediante interacciones célula-célula y célula-superficie. Con el propósito de analizar el efecto de las fuerzas de “shear” sobre el posicionamiento de las proteínas en la membrana y la consecuente adhesión, se planea evaluar mediante Microscopía de Fuerza Atómica (MFA) la distribución de las mismas sobre la cubierta externa de células individuales adheridas a soportes abióticos bajo diversas velocidades de flujo de medio de cultivo. Para realizar las medidas, una vez adheridas las bacterias, es necesario conservar las estructuras externas de las mismas mediante fijación, impidiendo que se generen cambios en la distribución de adhesinas durante la adquisición de los datos con el MFA. El objetivo del trabajo es registrar los efectos de la fijación con glutaraldehído sobre las propiedades nanomecánicas de *B. pertussis*, analizando la rigidez de la envoltura celular bacteriana, y comprobar la utilidad de la técnica de fijación. Se utilizó la cepa de referencia *B. pertussis* Tohama I. Las células fueron adheridas mediante interacción electrostática a un porta objetos de 1cm x 1cm previamente modificado con Poli-l-lisina 0.1%. Luego, los vidrios con las bacterias adheridas fueron sometidos a fijación e incubados con glutaraldehído 0,5%. Se realizó un registro de las propiedades nanomecánicas mediante el cálculo de los módulos de Young (E) para cada condición. Para ello, se utilizó la herramienta Force Volume que permite adquirir curvas de fuerzas sobre la superficie de células individuales. En este trabajo, las curvas de fuerza fueron analizadas utilizando el modelo de Hertz. Los resultados indican que *B. pertussis* Tohama I fijada presenta un valor promedio de E mayor que *B. pertussis* Tohama I no expuesta a glutaraldehído. Estos resultados pueden ser atribuidos al efecto del glutaraldehído sobre las proteínas de membranas generando mayor rigidez en la cubierta, que sin embargo no modifica la distribución de las mismas reflejadas en los histogramas. La tendencia a formar uniones cruzadas hace del glutaraldehído un fijador muy útil además de mantener la integridad de las estructuras, ya que actúa sobre las proteínas asegurando su máxima preservación espacial. Los resultados obtenidos permiten concluir que la fijación mediante glutaraldehído resulta un método útil para conservar la distribución de las proteínas de membranas previo a su análisis mediante MFA.

REFERENCIAS

- [1] Arnal L., (2012) “Adhesin contribution to nanomechanical properties of virulent *Bordetella pertussis* envelope” *Langmuir* 28(19):7461-7469.
- [2] Sloan, GP., (2007) “The Bordetella Bps polysaccharide is critical for biofilm development in the mouse respiratory tract” *J. Bacteriol.* 189(22):8270-8276.
- [3] Gaboriaud, F., (2007) “Atomic force microscopy of microbial cells: Application to nanomechanical properties, surface forces and molecular recognition forces” *Colloids Surf.* 54(1):10-19.

FIGURAS



Histogramas representativos del E de (A) *B. pertussis* Tohama I fijada con glutaraldehído y (B) *B. pertussis* Tohama I sin fijar.