

Maite Orruño, Idoia Garaizabal, Lucía Gallego, Vladimir Kaberdin, Inés Arana & Isabel Barcina

Dpto. Inmunología, Microbiología y Parasitología, Fac. Ciencia y Tecnología, Fac. Farmacia, Fac. Medicina y Odontología
Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Apdo. 644, E-48080 Bilbao, Spain

- ✓ En situaciones de estrés, gran número de bacterias incapaces de formar estructuras de resistencia adoptan el estado Viable No Cultivable (VNC)
- ✓ Los factores ambientales regulan la formación de este fenotipo, siendo la temperatura uno de los más estudiados (3, 7)
- ✓ La distribución del género *Vibrio* en el medio marino presenta una pauta estacional regida por la temperatura, con un patrón similar al descrito para bacterias psicrófilas/psicrotrofas (*Pseudomonas fluorescens*) pero opuesto al encontrado para bacterias mesófilas (*Escherichia coli*) (1)

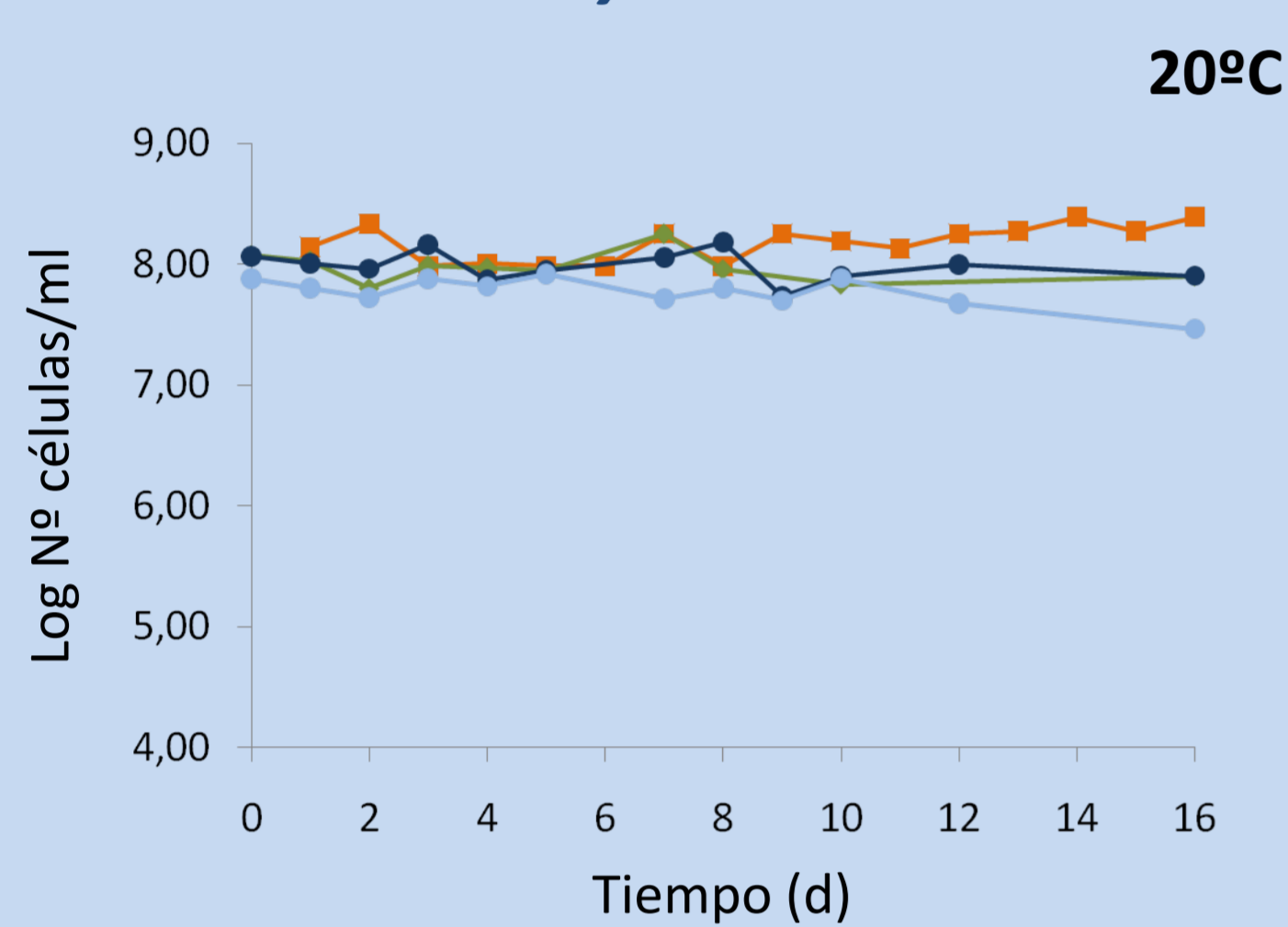
OBJETIVO

Estudiar comparativamente los cambios fisiológicos/fenotípicos que experimentan poblaciones de *V. harveyi* y *E. coli* mantenidas en agua de mar e incubadas a 4º y 20ºC.

MATERIALES Y MÉTODOS:

- ✓ *Vibrio harveyi* CECT 525 y *Escherichia coli* CECT 416
- ✓ Agua de mar natural (Arminza, Vizcaya) esterilizada en autoclave
- ✓ Temperaturas de incubación: 4º y 20ºC
- ✓ Cuantificación de poblaciones microbianas:
 - ✓ Nº total de células/ml (4)
 - ✓ Nº de bacterias con membrana citoplasmática íntegra/ml (2, 5)
 - ✓ Nº de bacterias cultivables/ml en TSA y AM
- ✓ Perfil metabólico: API 20E
- ✓ Perfil proteómico de la membrana externa (6)

V. harveyi CECT 525

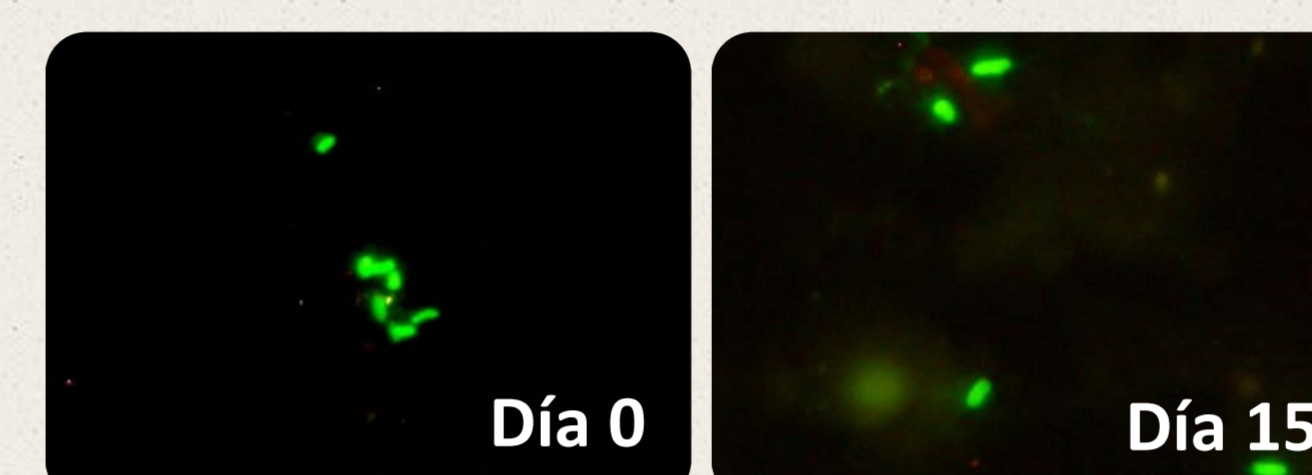


20ºC



Día 0

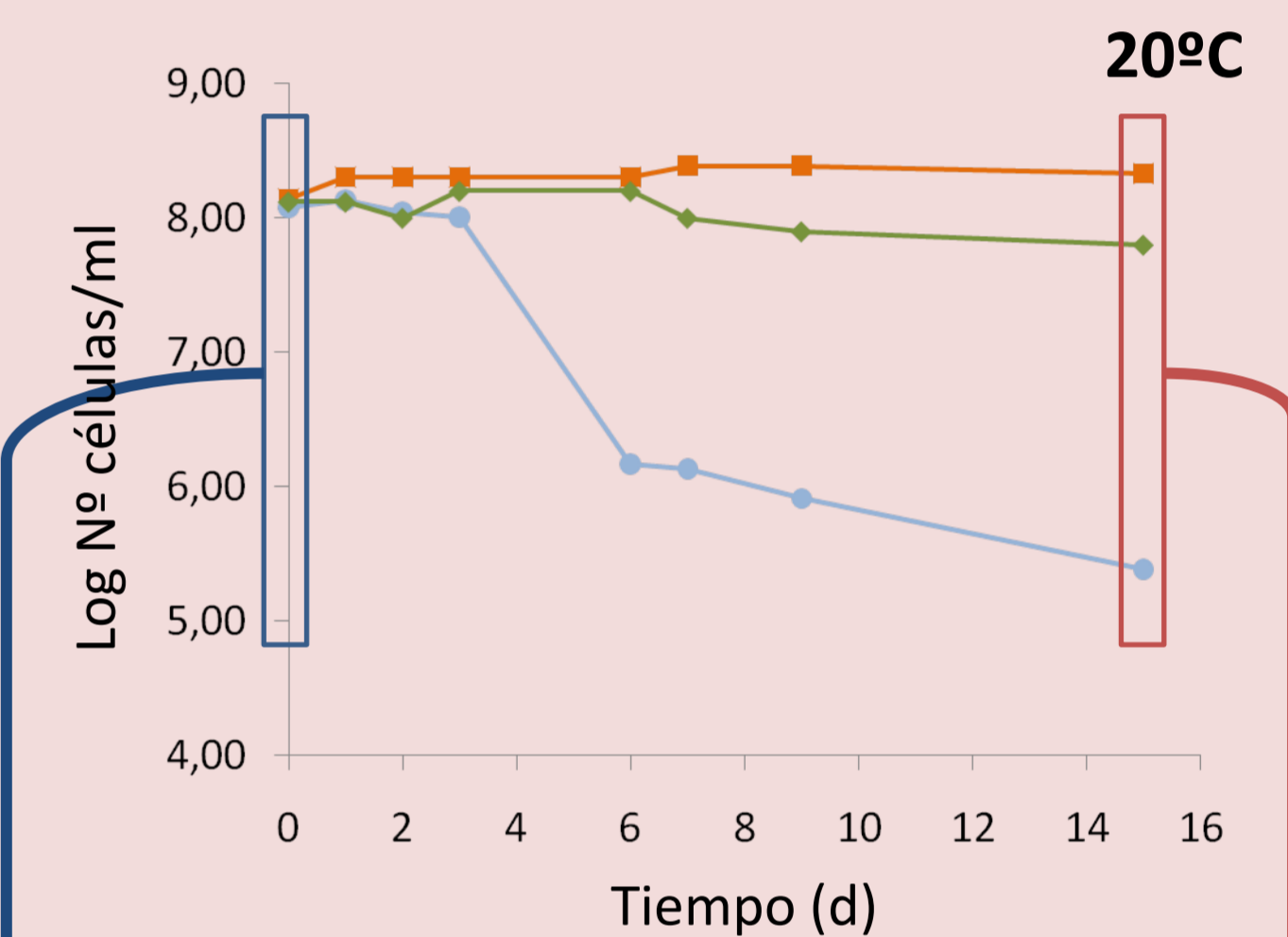
Día 15



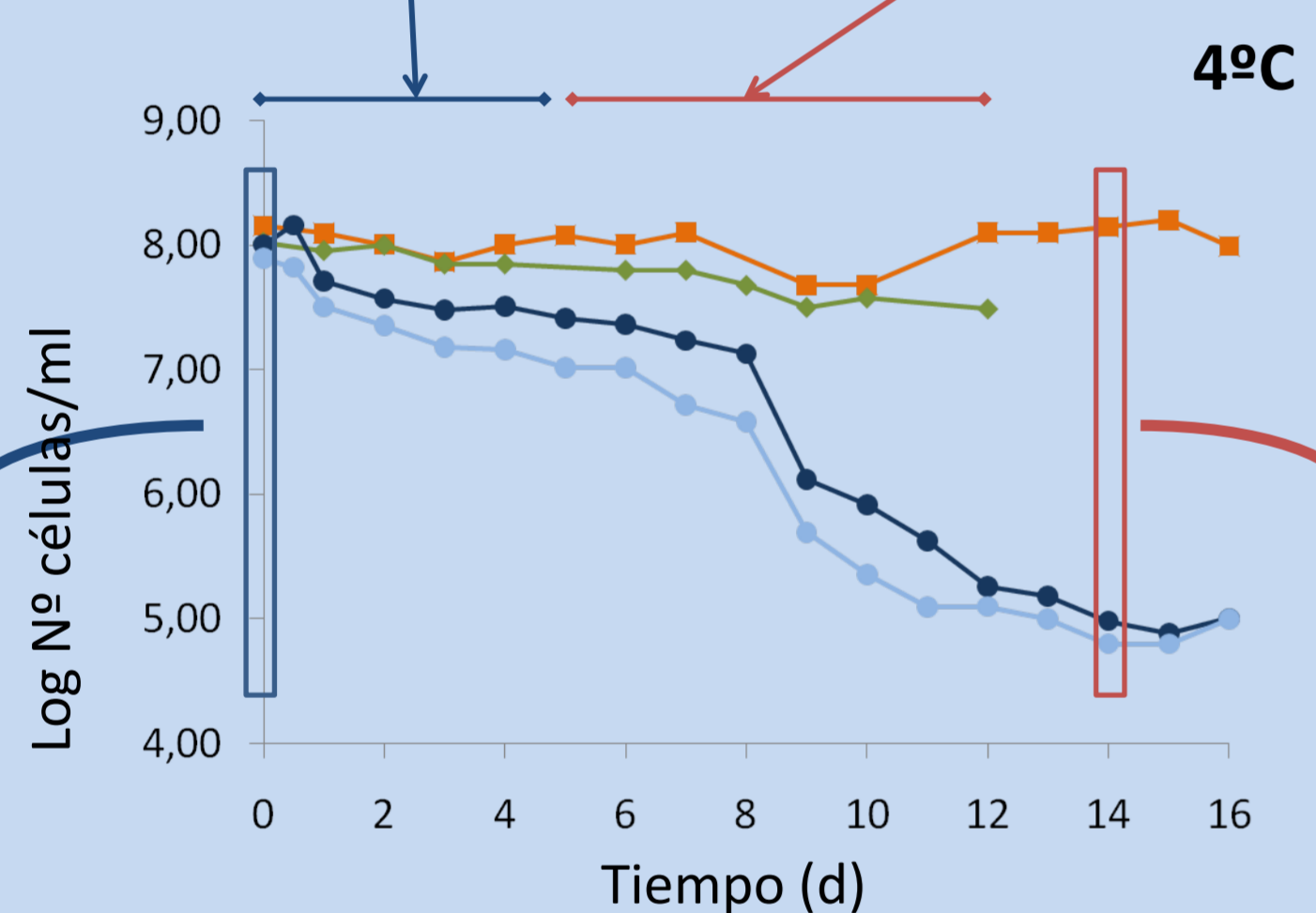
Día 0

Día 15

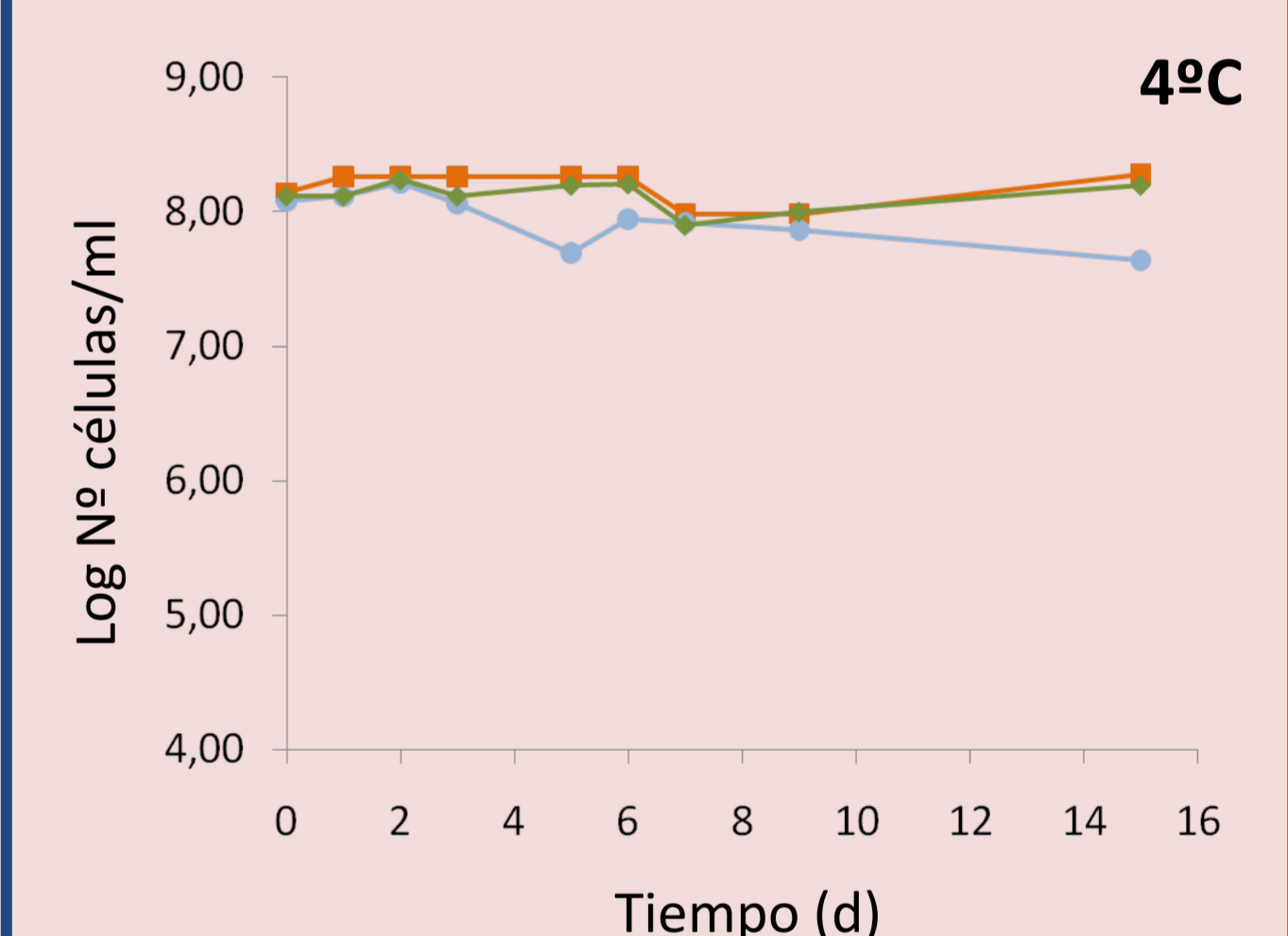
E. coli CECT 416



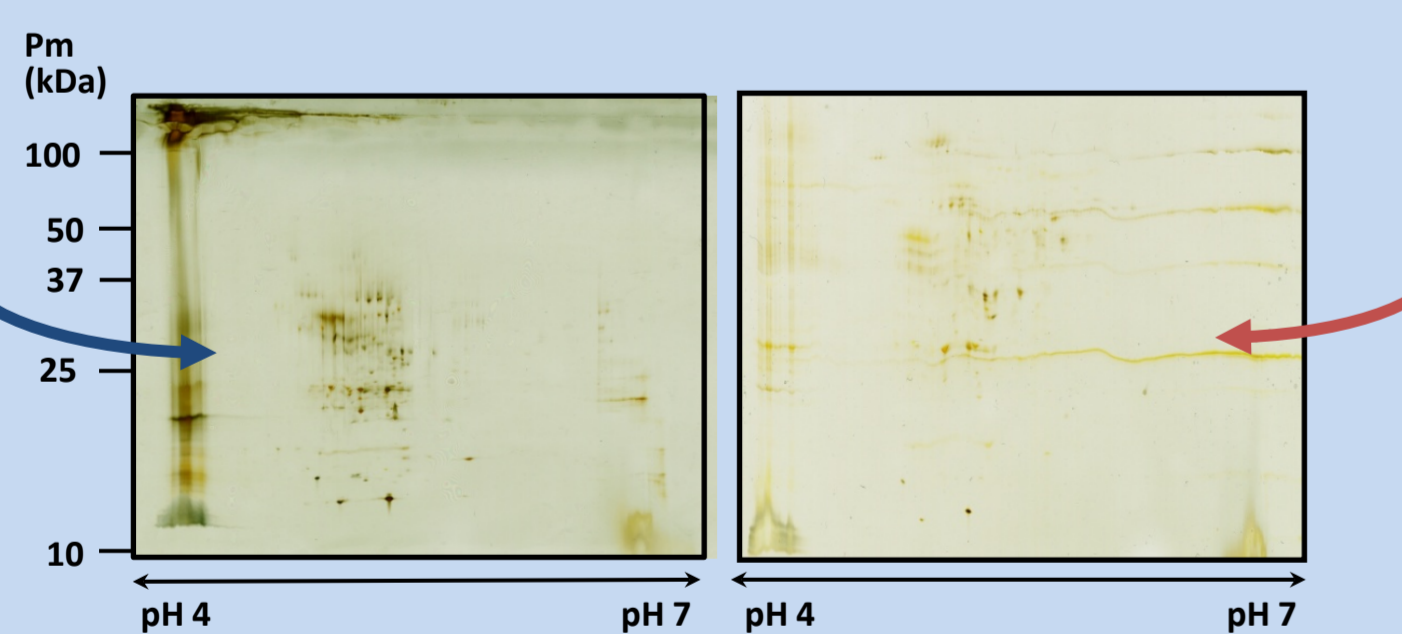
20ºC



4ºC



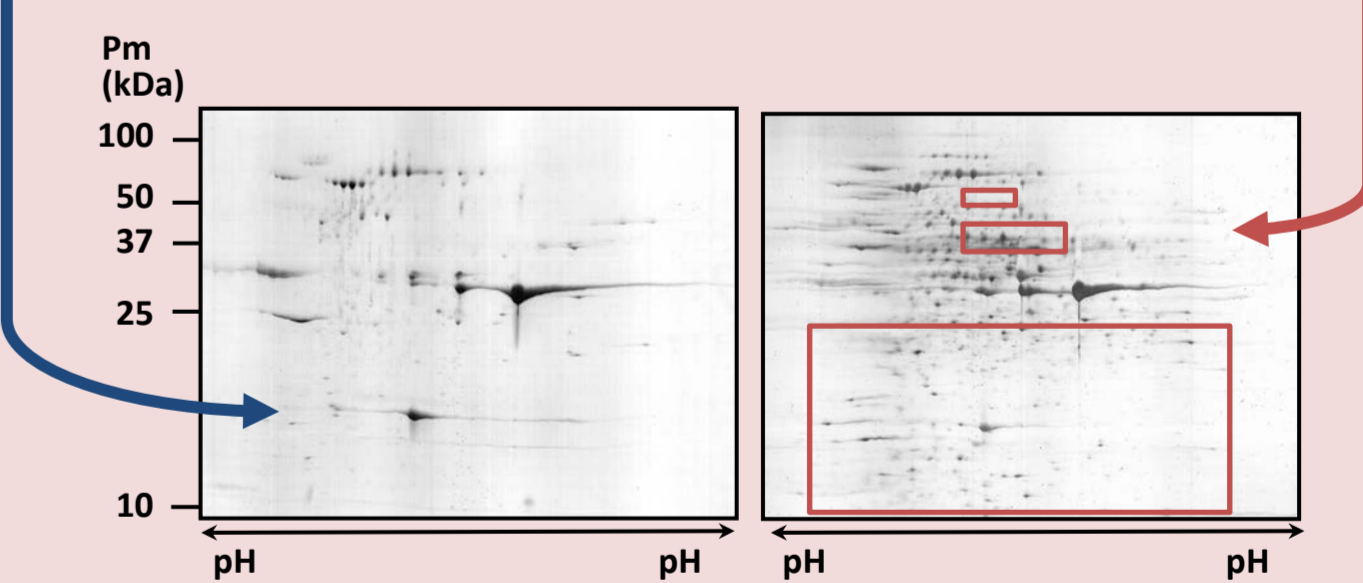
4ºC



Día 4

Día 6

Día 14



Día 4

Día 6

Día 14

| <i>Vibrio harveyi</i> | Temperatura inductora del fenotipo | <i>Escherichia coli</i> |
|--|-------------------------------------|---|
| 4ºC | | 20ºC |
| Mantenimiento integridad celular Disminución de tamaño | Células totales | Mantenimiento integridad celular Sin variaciones en tamaño |
| Fallo kit Live/Dead <i>BacLight</i> : 4 - 5 d Fallo método IP: 10 - 12 d | Células activas | Dificultad relativa de enumeración |
| Efecto negativo de medios con baja salinidad y elevada concentración de nutrientes | Células cultivables | - |
| Difícil recogida de células Fácil rotura | Extracción de proteínas de membrana | Fácil recogida de células Dificultad relativa de rotura |
| Rango pH: 4,5 - 5,5 Rango Pm: 70 - <15 kDa | Proteínas | Rango pH amplio: 4 - 6,5 Rango Pm: 100 - 25 kDa |
| Escasa | Variación proteoma | Incremento proteínas de bajo Pm |

■ Células totales ◆ Células viables ● Células cultivables (TSA) ● Células cultivables (AM)

AGRADECIMIENTOS

- ✓ Grupos Gobierno Vasco IT376-10
- ✓ Beca Predoctoral Gobierno Vasco (I. Garaizabal)

CONCLUSIONES

- ✓ Diferencias en el proceso de tránsito al estado VNC dependiendo del tipo microbiano
- ✓ Diferentes estrategias rinden un fenotipo común

A FUTURO

Análisis shotgun (SGIker, UPV/EHU)

BIBLIOGRAFÍA

1. Arana I, Muela A, Orruño M, Seco C, Garaizabal I, Barcina I. 2010. FEMS Microbiol Ecol 74: 500- 509.
2. Banning N, Toze S, Mee .BJ. 2002. J Appl Microbiol 93:69-76.
3. Barcina I, Arana I. 2009. Rev Environ Sci Biotechnol 8:245-255.
4. Hobbie JE, Daley RJ, Jasper S. 1977. Appl Environ Microbiol 33:1225-1228.
5. Joux F, Lebaron P, Troussellier M. 1997. FEMS Microbiol Ecol 22:65-76.
6. Muela A, Seco C, Camafeita E, Arana I, Orruño M, López JA, Barcina I. 2008. FEMS Microbiol Ecol 64:28-36.
7. Oliver JD. 2010. FEMS Microbiol Rev 34:415-425.