

Estudio comparativo de la susceptibilidad al estrés ácido, oxidativo y sobrecarga en macrófagos en aislamientos de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

MARÍA ALEJANDRA COLOMBATTI OLIVIERI¹, LUISA BERNÁ², MARÍA XIMENA CUERDA¹, MARÍA FIORELLA ALVARADO PINEDO³, MARÍA ISABEL ROMANO¹ Y MARÍA DE LA PAZ SANTANGELO¹

¹ Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABiMo) (INTA-CONICET). Castelar, Buenos Aires, Argentina

² Unidad de Biología Molecular, Instituto Pasteur. Montevideo, Uruguay

³ Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias (CEDIVE), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Chascomús, Buenos Aires, Argentina

colombatti.alejandra@inta.gob.ar

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (MAP) es el agente causal de la paratuberculosis. Poco se conoce sobre los factores de virulencia en este patógeno. En un trabajo previo seleccionamos tres cepas, aisladas a partir de bovinos en Argentina, con diferente grado de virulencia en un modelo murino. Realizamos un estudio de genómica comparativa y detectamos una delección de 12 pb en gen *Map_0403* en la cepa de alta virulencia Map 1347. La proteína *Map_0403* es homóloga a *Rv3671c* que está bien caracterizada en *Mycobacterium tuberculosis* fue asociada a protección del estrés ácido y oxidativo que encuentra dentro de los fagosomas en los

macrófagos. Para demostrar el rol de Map_0403 en MAP, y si la mutación encontrada afecta de alguna manera la virulencia, se realizaron ensayos de infección de macrófagos derivados de monocitos bovinos (MDMB) y resistencia a pH ácido y H₂O₂. Se utilizaron las cepas 1347 (alta virulencia), 6611 (alta-mediana virulencia), 1547 (baja virulencia) y la cepa de referencia K-10 (baja virulencia). Se realizaron 2 ensayos de infección de MDMB provenientes de diferentes animales utilizando una multiplicidad de infección (MOI) de 10:1, y se evaluó la sobrevivencia de MAP a los 2, 4 y 6 días post-infección. Por otro lado, se cultivaron a pH 7 y pH 4.5 por 6, 12, 30 y 75 días; y se evaluó la sensibilidad a diferentes concentraciones de H₂O₂ (0, 5, 20 y 50mM) por 3 h de exposición. Se observó que las cepas 1347 y 6611 fueron las que tuvieron mayor sobrevivencia en MDMB y las que tuvieron mayor resistencia al H₂O₂. Con respecto al pH ácido, la cepa 6611 fue la que mostró mayor sensibilidad. La delección en el gen *Map_0403* en la cepa 1347 no afectó la susceptibilidad al estrés ácido y oxidativo, ni a la sobrevivencia en MDMB. Se requieren más estudios para evaluar el rol de este gen en la virulencia de MAP.

Palabras clave: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, pH, peróxido de hidrogeno, macrófagos.