

# RECAM 2016

## UNITAT I DIVERSITAT EN MICROBIOLOGIA

18 novembre 2016

**Secció de Microbiologia de la Societat Catalana de Biologia**  
**Coordinador de la Secció de Microbiologia: Jordi Mas Castellà**  
Sala Nicolau d'Olwer, Institut d'Estudis Catalans, c/ Carme 47, 08001 Barcelona



# Llibre de resums

### Coordinadors de la RECAM 2016:

Mercè Berlanga ([mberlanga@ub.edu](mailto:mberlanga@ub.edu))  
Jordi Urmeneta ([jurmeneta@ub.edu](mailto:jurmeneta@ub.edu))

### Esponsoritzat per:



Institut  
d'Estudis  
Catalans

## CONTINGUT

Efectes de factors secretats per la soca Probiòtica <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917 i la soca comensal ECOR63 en la regulació de la barrera intestinal.....	3
El llevat com model per estudiar la homeòstasi cel·lular del calci i la seva regulació redox .....	5
Disseny de noves estratègies per a la detecció precoç de la sèpsia greu .....	6
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> : de la microbiologia clàssica a l'aplicació en el diagnòstic de les malalties inflamatòries intestinals. ....	7
<i>Oenococcus oeni</i> , el bacteri més adaptat al vi: com s'ho fa ?.....	9
Pèptids antimicrobians multifuncionals. Aplicacions en sanitat vegetal i producció en plantes biofactòria .....	10

# EFFECTES DE FACTORS SECRETATS PER LA SOCA PROBIÒTICA *ESCHERICHIA COLI* NISSLE 1917 I LA SOCA COMENSAL ECOR63 EN LA REGULACIÓ DE LA BARRERA INTESTINAL.

**Josefa Badia\***

Departament de Bioquímica i Fisiologia

Facultat de Farmàcia i Ciències de l'alimentació

Universitat de Barcelona

L'epiteli gastrointestinal forma una barrera física i bioquímica que manté la segregació entre l'hoste i la microbiota intestinal. La integritat d'aquesta barrera és crítica en el manteniment de l'homeòstasi en el organisme i la seva disfunció està vinculat a diverses malalties, especialment malalties inflamatòries de l'intestí. La microbiota intestinal, i en particular els bacteris probiòtics, contribueixen a modular la integritat de la barrera mitjançant la reducció de la permeabilitat intestinal i el reforçament de les unions estretes entre enteròcits. La soca probiòtica *Escherichia coli* Nissle 1917 (ECN) és un bon colonitzador de l'intestí humà amb eficàcia terapèutica provada en la remissió de la colitis ulcerosa en humans. ECN modula positivament la barrera de l'epiteli intestinal a través de la regulació positiva i la redistribució de les proteïnes ZO-1, ZO-2 i Claudina-14. La regulació positiva de Claudina-14 s'ha atribuït a la proteïna secretada TpcC. Es desconeix si la regulació de la ZO-1 i ZO-2 és a través de factors secretats. L'objectiu d'aquest estudi és explorar si les vesícules de membrana externa (OMVs) alliberades per ECN contribueixen a reforçar la barrera epitelial. Aquest estudi inclou altres soques d'*E. coli* d'origen intestinal aïllades de femta humana que contenen el gen *tcpC*, com ECOR63. A partir de sobrenedants lliures de cèl·lules recollides de cultius d'aquestes soques i dels mutants TpcC derivats es van aïllar dos fraccions: (i) OMVs i (ii) factors secretats solubles. L'impacte d'aquestes fraccions extracel·lulars en la barrera epitelial es va avaluar mitjançant la mesura de la resistència transepitelial i l'expressió de diverses proteïnes d'unió estreta en monocapes polaritzades de línies cel·lulars T84 i Caco-2. Els resultats mostren que l'activitat d'enfortiment de la barrera intestinal no depèn exclusivament de TpcC. OMVs i factors solubles secretades per aquestes soques promouen la regulació positiva de ZO-1 i Claudina-14, i regulació disminuïda de la claudina-2. Els efectes de OMVs no depenen de la proteïna TpcC. TpcC és secretada en forma soluble i contribueix a la regulació positiva de ZO-1 i Claudin-14, però aquesta proteïna no té cap efecte sobre la regulació transcripcional de Claudin-2. Aquests resultats permeten concloure que, a més de les OMVs i TpcC, altres factors solubles alliberats per aquests soques de la microbiota contribueixen al reforçament de la barrera epitelial.

**Josefa Badia** (Barcelona, 1956), Professora Titular del Departament de Bioquímica i Fisiologia de la Facultat de Farmàcia i Ciències de l'alimentació, Universitat de Barcelona. Doctora en Farmàcia per la UB l'any 1987. En 1989 va realitzar una estada al laboratori del Prof. Wolf-Dieter Fessner, a Freiburg, Alemanya, per desenvolupar un projecte relacionat amb la utilització d'enzims de la via de la ramnosa per a síntesi de nous compostos orgànics. Actualment és membre del Grup de Recerca **"Interacció microbiota-epiteli intestinal"**, Grup de Recerca Consolidat per la Generalitat de Catalunya i membre del IBUB (Institut de Biomedicina de la UB). Té una extensa trajectòria en estudis de regulació metabòlica en enterobactèries, amb una àmplia experiència en l'estudi funcional d'enzims i anàlisi d'expressió gènica de rutes metabòliques complexes. En la actualitat la seva recerca es centre en el camp de les interaccions entre la microbiota intestinal i l'hoste, i més en concret en l'estudi de la regulació de l'homeòstasi intestinal per factors secretats pels bacteris, tant factors solubles com vesícules de membrana externa (OMVs). Ha dirigit 8 tesis doctorals i té un total de 68 articles publicats en revistes internacionals indexades de les àrees de Microbiologia, Bioquímica i Biologia Molecular i Química mèdica.

\*Amb la col·laboració de Carina-Shianya Alvarez, Maria José Fàbrega, M<sup>a</sup> Laura Aguilera, Maria Alexandra Cañas, Rosa Giménez, Laura Baldomà.

# EL LLEVAT COM MODEL PER ESTUDIAR LA HOMEÒSTASI CEL·LULAR DEL CALCI I LA SEVA REGULACIÓ REDOX

**Enric Herrero**

Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques

Universitat de Lleida

En els darrers temps la regulació redox s'ha caracteritzat com un mecanisme de control de diversos processos cel·lulars en resposta a estímuls ambientals. Aquest mecanisme de regulació opera fonamentalment sobre els residus de cisteïna de les proteïnes i es dut a terme sobre tot per membres de les famílies de les tioredoxines i les glutaredoxines. El nostre grup utilitza el llevat *Saccharomyces cerevisiae* com model per estudiar els mecanismes de regulació redox per glutaredoxines i la seva influència sobre la fisiologia de la cèl·lula. En el present estudi hem caracteritzat el paper de glutaredoxines associades al reticle endoplasmàtic i a l'aparell de Golgi en relació a l'homeostasi del calci i del manganès, dos cations essencials en el processament i secreció de proteïnes, i hem demostrat també que la principal bomba transportadora dels dos cations des del citoplasma a les vesícules secretores és sotmesa a regulació redox.

# DISSENY DE NOVES ESTRATÈGIES PER A LA DETECCIÓ PRECOÇ DE LA SÈPSIA

## GREU

Anna Fàbrega

Grup de Recerca de Microbiologia

Vall d'Hebron Institut de Recerca

La sèpsia és una condició mèdica greu que es caracteritza per un estat inflamatori de tot el cos (anomenat síndrome de resposta inflamatòria sistèmica o SRIS) i la presència d'una infecció coneguda o sospitosa. Segons l'estat del pacient es distingeixen diferents graus de severitat: la sèpsia greu es defineix com un estat de sèpsia al qual s'afegeix una disfunció orgànica o hipoperfusió en teixits, mentre que el xoc sèptic refereix a un estat d'hipotensió derivat de la sèpsia que persisteix tot i una bona ressuscitació de fluids.

El diagnòstic i el tractament de la sèpsia juguen un paper crític per la recuperació del pacient, demostrant que una implementació ràpida de les mesures adequades dins de les primeres 6 hores després del diagnòstic permet augmentar el percentatge de supervivència. El projecte actual RAIS (Scalable, point-of-care and label free microarray platform for rapid detection of Sepsis), finançat per la Unió Europea, té per objectiu desenvolupar un dispositiu portàtil d'anàlisi del tipus "point-of-care" per a la detecció de diversos marcadors de sèpsia. Els marcadors inicialment inclosos engloben paràmetres proteics del pacient (proteïna C reactiva, procalcitonina, interleuquina-6, MR-proadrenomodulina), miRNAs circulants en sang i marcadors dels microorganismes més freqüentment aïllats causants de sèpsia. Aquesta plataforma integra l'ús de microarrays amb noves tècniques interferomètriques per poder realitzar un gran nombre de tests de forma simultània. El temps estimat d'anàlisi dels biomarcadors són 30 minuts, de manera que permetria una detecció precoç dels casos reals de sèpsia conjuntament amb la identificació del patògen responsable, facilitant així la implementació del tractament adequat en la major brevetat de temps possible.

# FAECALIBACTERIUM PRAUSNITZII: DE LA MICROBIOLOGIA CLÀSSICA A L'APLICACIÓ EN EL DIAGNÒSTIC DE LES MALALTIES INFLAMATÒRIES INTESTINALS.

**Mireia López Siles**

Departament de Biologia

Facultat de Ciències

Universitat de Girona

En els darrers anys, hi ha hagut un interès creixent en *Faecalibacterium prausnitzii*, una de les espècies bacterianes més abundants trobades a l'intestí i que juga un paper fonamental en el manteniment de la salut intestinal.

La caracterització fenotípica d'aïllats de *F. prausnitzii* obtinguts d'individus sans ha permès comprendre millor la fisiologia d'aquesta espècie. S'ha revelat una possible relació entre la seva sensibilitat a canvis en les condicions fisicoquímiques de l'intestí i la seva desaparició en un intestí malalt. Aquesta relació pot servir com a base per a futurs estudis adreçats a la recuperació d'aquesta població de microorganismes a l'intestí de pacients amb trastorns intestinals.

A més, l'anàlisi filogenètica ha demostrat que, dins d'aquesta espècie, es poden trobar almenys dos filogrupos diferents de *F. prausnitzii*. Mitjançant estudis moleculars sobre les poblacions de *F. prausnitzii*, s'ha evidenciat que aquests filogrupos es distribueixen de forma diferent entre persones sanes i pacients amb trastorns intestinals. A més, aquests estudis han permès identificar els filotips d'aquesta espècie que es veuen compromesos específicament en pacients que pateixen malalties intestinals com ara la colitis ulcerosa, la malaltia de Crohn i el càncer colorectal.

Finalment, aquests resultats s'han utilitzat per dissenyar eines moleculars que s'han aplicat per a la detecció i quantificació d'aquesta espècie i els seus filogrupos. Aquestes eines són de gran importància científica i d'interès comercial ja que estan dirigides a la detecció de nous biomarcadors, que poden ser implementats com a eines moleculars complementàries per al diagnòstic i pronòstic de malalties intestinals.

En aquesta ponència, el nostre objectiu és donar una visió general de la filogènia de *F. prausnitzii*, la seva ecofisiologia i diversitat. A més, es comentaran algunes estratègies per modular l'abundància de *F. prausnitzii* a l'intestí i s'analitzarà la seva aplicació com a biomarcador per ajudar al diagnòstic i pronòstic de malalties intestinals.



# OENOCOCCUS OENI, EL BACTERI MÉS ADAPTAT AL VI: COM S'HO FA ?

**Albert Bordons**

Departament de Bioquímica i Biotecnologia

Universitat Rovira i Virgili

*Oenococcus oeni* és el bacteri làctic predominant en la fermentació malolàctica (FML) dels vins. La FML té lloc després de la fermentació alcohòlica en molts vins, sobretot negres, per tal de reduir-ne l'acidesa i millorar-ne les característiques organolèptiques. *O. oeni* ha de realitzar aquesta fermentació al vi, que té unes condicions molt hostils, ja que conté etanol (a vegades fins a 14 o 15%), té un pH força àcid (entre 3 i 3,5), hi ha compostos fenòlics inhibidors, i té poquíssims nutrients. Per tant, les condicions a les que s'enfronta aquest bacteri, l'únic que pot resistir-les, són molt estressants. L'etanol és sens dubte el factor més important, ja que per un costat afecta i fluidifica la membrana i per altra provoca l'aparició d'espècies reactives d'oxigen (ROS) que causen nombrosos danys intracel·lulars. Sembla que els mecanismes moleculars que permeten a *O. oeni* subsistir i realitzar la FML estan relacionats per una banda en modificacions de la composició de membrana, per altra banda en l'activació de proteïnes d'estrès reparadores, i també per l'acció antioxidant dels sistemes redox glutatió i tioredoxina. Al mateix temps, *O. oeni* obté l'energia (ATP) necessària per a la subsistència cel·lular i per mantenir el pH intracel·lular sobretot del L-màlic en descarboxilar-lo a L-làctic, o sigui, la conversió coneguda com a FML.

# PÈPTIDS ANTIMICROBIANS MULTIFUNCIONALS. APLICACIONS EN SANITAT VEGETAL I PRODUCCIÓ EN PLANTES BIOFACTORIA

Laura Montesinos

Centre d'Innovació i Desenvolupament en Sanitat Vegetal

Parc Científic i Tecnològic de la Universitat de Girona

Les malalties de les plantes causades per fongs, virus i bacteris són unes de les principals causes de pèrdues dels conreus, i tradicionalment el seu control s'ha basat en la utilització de plaguicides químics sintètics convencionals. Actualment, les aproximacions per a la protecció de cultius contra malalties se centren de manera especial en l'ús racional de plaguicides i en la reducció del número de matèries actives autoritzades. Els pèptids antimicrobians (PAMs) poden constituir una alternativa o complement als productes sanitaris existents, ja que es poden obtenir variants sintètiques optimitzades mitjançant mètodes de disseny i química combinatòria. Els nostres laboratoris han generat diverses llibreries peptídiques de PAMs. En total s'han desenvolupat més de 320 pèptids que presenten una mida inferior a 3 kDa, incloent pèptids lineals (llibreria CECMEL11), cíclics (llibreria CYCLO10), pèptids que contenen 5-arilhistidines, ciclolipopèptids, peptidotriazoles i estructures multivalents. Pèptids líder pertanyents a aquests grups presenten concentracions mínimes inhibidores (CMI) en un rang de 1 a 10  $\mu$ molar (similar a la que presenten els antibiòtics convencionals), baixa activitat hemolítica i moderada fitotoxicitat. A més, en les diverses famílies s'han identificat pèptids activadors de mecanismes de defensa de les plantes. Pèptids d'aquestes famílies són eficaços en el control de malalties causades per *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* en plantes de perera, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* en kiwi, *Xanthomonas vesicatoria* en pebrot i tomata, *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* en noguera, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* en *Prunus*, *Erwinia amylovora* en perera i pomera, *Stemphylium vesicarium* en perera, *Botrytis cinerea* en maduixera, i *Penicillium expansum* en pomera, entre altres.

S'ha desenvolupat i avaluat una plataforma sostenible per la producció heteròloga de pèptids antimicrobians sintètics pertanyents a la llibreria CECMEL11, utilitzant llavors d'arròs com a biofactoria. Es van obtenir plantes transgèniques d'arròs que expressaven les seqüències gèniques corresponents als PAMs sota el control de promotors específics de llavor ( $\alpha$ -26 kDa *globulina* i 18 kDa *oleosina*). Es va confirmar l'acumulació dels PAMs en la llavor d'arròs però no en altres teixits de la planta, conferint a les plàntules durant la germinació un increment molt significatiu de la seva resistència a infeccions causades pel bacteri *Dickeya* sp. i el fong *Fusarium verticillioides*. Els PAMs es van recuperar fàcilment a partir de llavors d'arròs

mitjançant un procediment simple, i amb rendiments acceptables. El transgen es va heretar de manera estable durant almenys tres generacions, i l'acumulació de pèptid es va mantenir estable durant l'emmagatzematge de les llavors transgèniques durant llargs períodes de temps. Els pèptids purificats van mostrar activitat *in vitro* contra el bacteri patògen de plantes *Dickeya* sp. Es pot concloure que la llavor d'arròs ofereix una plataforma adequada per la producció de pèptids antimicrobians.