

ESTUDIO DEL EFECTO DEL OZONO Y DEL ÓXIDO NÍTRICO SOBRE LOS PERFILES PROTEICOS DE *Staphylococcus aureus*: UN POSIBLE MODELO DE ESTRÉS OXIDATIVO.

José Carlos Díez-Masa: *Instituto de Química Orgánica General (C.S.I.C.)*

Mercedes de Frutos Gómez: *Instituto de Química Orgánica General (C.S.I.C.)*

Ramón González García: *Instituto de Fermentaciones Industriales (C.S.I.C.)*

La detección e identificación de microorganismos es un área de investigación en pleno desarrollo por su interés en diferentes campos que tocan la salud humana, tales como análisis clínicos, investigación epidemiológica, seguridad alimentaria y protección contra ataques bio-terroristas.

El estudio de los efectos de diferentes gases sobre los microorganismos tiene interés desde el punto fisiológico. En concreto, el efecto del ozono como bactericida es bien conocido y el óxido nítrico está implicado en la acción de los macrófagos sobre los microorganismos patógenos.

La electroforesis capilar (EC) es una técnica rápida, sensible y automática de separación especialmente adecuada para el análisis de proteínas. A pesar de la enorme cantidad de trabajos publicados sobre la aplicación de la EC sólo algunos trabajos han demostrado hasta ahora la adecuación de esta técnica para el estudio de microorganismos empleando su denominada "huella proteica", que consiste en el perfil obtenido por electroforesis capilar de las proteínas presentes en un lisado del microorganismo.

El objetivo de este proyecto ha sido explorar las posibilidades de la EC con detección por fluorescencia inducida por láser como herramienta rápida y sensible para detectar proteínas relacionadas con alteraciones metabólicas del microorganismo como respuesta a alteraciones causadas por estrés oxidativo. Como modelo animal se ha elegido el microorganismo *Staphylococcus aureus*, uno de los mayores causantes de infecciones hospitalarias. Como modelo de oxidación se eligieron dos gases: el ozono y el óxido nítrico.

A lo largo de este proyecto se han obtenido los siguientes resultados:

1. Desarrollo de un método de electroforesis capilar con detección por fluorescencia inducida por láser para estudio de perfiles proteicos de *Staphylococcus aureus*.
2. Estudio de los perfiles proteicos de *Staphylococcus aureus* crecidos en diferentes medios de cultivo.
3. Estudio de los perfiles proteicos de *Staphylococcus aureus* crecidos a diferentes temperaturas. Detección de algunas proteínas posiblemente relacionadas con el estrés térmico en el microorganismo.
4. Estudio de los perfiles proteicos de *Staphylococcus aureus* crecidos bajo el efecto del óxido nítrico. Detección de algunas proteínas posiblemente relacionadas con el estrés oxidativo.

No se ha conseguido el control de concentraciones suficientemente bajas de ozono en los medios de cultivo como para que no fuesen letales para la especie *Staphylococcus aureus*.

Como perspectivas futuras para la continuación de este proyecto en base a los resultados obtenidos, se puede adelantar que la técnica desarrollada, debido a que puede analizar el perfil proteico de una sola célula (resultados no mostrados en este proyecto), puede ser de utilidad para el estudio del mecanismo de ataque de las células del sistema inmune innato (p.e., macrófagos) a microorganismos.