**Evaluación in vivo de la toxicidad de lipopeptidos sintetizados por *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* C4**

Huarachi SF (1), Villena J (2), Petroselli G (3), Audisio MC (4)

(1) Cátedra de Microbiología General. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Jujuy

(2) Laboratorio de Inmunobiotecnología. Centro de Referencia para Lactobacilos CERELA-CONICET.

(3) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. CIHIDECAR-CONICET.

(4) INIQUI –CONICET, Universidad Nacional de Salta. Av. Bolivia 5.150, Salta. CP 4408FVY.

Los datos de filiación que se solicita en la plantilla son: Institución, Dirección, Ciudad, Provincia, País.

carina.audisio@gmail.comr

*Bacillus* *subtilis* subsp. *subtilis* C4, sintetiza metabolitos con actividad antifúngica y antibacteriana. Estos metabolitos, los cuales fueron identificados previamente como homólogos de kurstakinas, surfactinas, iturinas y fengicinas por espectrometría de masa UV-MALDI, poseen buena actividad antibacteriana frente a cepas patógenas gram-negativas. En este trabajo, se decidió determinar si estos lipopéptidos causan posibles efectos tóxicos potenciales en ratones BALB/c adultos inmunocompetentes. Los grupos tratados recibieron una dieta balanceada convencional *ad libitum* y se evaluaron los siguientes agentes antimicrobianos producidos por C4; sobrenadante libre de células (SLC), fracciones de lipopéptidos purificados (FL) a dos concentraciones distintas de 10 y 20 mg/mL usando como control negativo caldo estéril Luria Bertani (LB). Se establecieron los siguientes grupos (CM, SLC, FL10 y FL20) respectivamente y se trabajó con la autorización del comité de ética de CERELA-CONICET. Durante 5 días consecutivos se administró por vía oral 200 µL de la muestra control y de los tratamientos. Al sexto día los animales se sacrificaron y se realizaron pruebas generales, como la determinación del peso corporal, recuento de bacterias en hígado, bazo y sangre; hematocrito, proteínas en suero y se midió la concentración de enzimas séricas (GOT, GPT y LDH), las cuales son indicadoras de daño hepático y celular. También se realizaron pruebas inmunológicas: recuento total y diferencial de leucocitos en sangre; actividad de macrófagos alveolares y peritoneales; concentraciones de inmunoglobulinas en suero e intestino; niveles de factor de necrosis tumoral (TNF) e interleuquina 10 (IL-10) en fluido intestinal, bronquial y suero. El análisis estadístico de datos se realizó, usando la prueba de Kruskal Wallis y se pudo establecer en las pruebas generales, que la diferencia de pesos de los ratones entre los distintos tratamientos no fue estadísticamente significativa (p>0,05). Tampoco se observaron diferencias entre los grupos al analizar LDH en suero, fluido bronquial e intestinal y GOT en suero. Se observó que sí existió diferencia estadística significativa para la enzima GPT en suero solamente con la mayor concentración analizada FL20, respecto del control de medio CM. En el caso de las pruebas inmunológicas, para leucocitos y neutrófilos en sangre se encontraron diferencias entre los tratamientos SLC y FL10, pero no con respecto al control de medio CM. También se observaron leves incrementos en la fagocitosis de los macrófagos peritoneales y los niveles de TNF en fluido bronquial y suero entre el CM y SLC comparados con la FL20. Estos resultados indican que los lipopéptidos presentes en el SLC y FL de 10 mg/mL de *B. subtilis* subsp. *subtilis* C4, no producirían efecto tóxico *in vivo*, a diferencia de la FL de 20 mg/mL, la cual podría inducir una leve respuesta inflamatoria causando daño hepático y tisular.

Palabras Clave: *Bacillus subtilis*, lipopéptidos, ratones BALB/c, toxicidad

Las palabras clave deben ser diferentes de las del título del trabajo