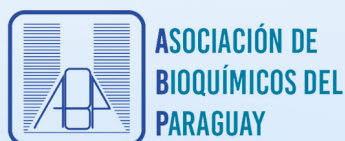


ALAM 2021

ASUNCIÓN - PARAGUAY
XXV CONGRESO
LATINOAMERICANO
DE MICROBIOLOGÍA
25 AL 28 DE AGOSTO



XXV CONGRESO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGÍA
V CONGRESO PARAGUAYO DE MICROBIOLOGÍA
IX CONGRESO NACIONAL DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
I CONGRESO PARAGUAYO DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS DEL LABORATORIO



LIBRO DE RESUMENES





ALAM 2021

**XXV CONGRESO LATINOAMERIANO DE MICROBIOLOGÍA
V CONGRESO PARAGUAYO DE MICROBIOLOGÍA
IX CONGRESO NACIONAL DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
I CONGRESO PARAGUAYO DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS DEL LABORATORIO**

25 AL 28 DE AGOSTO

PRESENTACIÓN

Estimados colegas:

El XXV Congreso Latinoamericano de Microbiología – ALAM 2021, V Congreso Paraguayo de Microbiología, IX Congreso Nacional de Bioquímica Clínica y I Congreso Paraguayo de Bioquímica y Ciencias del Laboratorio se llevó a cabo en Asunción, Paraguay durante los días 25, 26, 27 y 28 de agosto del 2021.

La Asociación Latinoamericana de Microbiología (ALAM) es reconocida por sus aportes a la ciencia, por compartir conocimientos y crear vínculos, por lo que en esta oportunidad la Sociedad Paraguaya de Microbiología y la Asociación de Bioquímicos del Paraguay ofrecieron un espacio para el intercambio de conocimientos y experiencias con expertos de primer nivel de las distintas áreas de la Microbiología y la Bioquímica. Para ello, el comité científico desarrolló un programa multifacético, presentando a los profesionales las últimas actualizaciones a través de sesiones virtuales que aseguraron una interacción dinámica entre los disertantes y los participantes. Cabe resaltar, que esta es la primera vez que se desarrolla este Congreso en la modalidad enteramente virtual.

El Congreso se desarrolló en 9 salas en simultáneo, se tuvieron 8 conferencias plenarias, 136 simposios, 5 cursos intra-congreso y 4 simposios satélites (SLAMTB, One Health-OMS/OPS, Covid-19 e INFOCUS LATAM-ISHAM WORKING GROUP).

En cuanto a los participantes, tuvimos el honor de contar con 352 disertantes de todo el mundo. Se registraron 2130 participantes de 38 países (Argentina, Brasil, Uruguay, Chile, Colombia, Ecuador, Bolivia, Perú, México, Costa Rica, Cuba, Venezuela, República Dominicana, Honduras, Puerto Rico, Panamá, Guyana, Nicaragua, El Salvador, Jamaica, Belice, Haití, Las Bahamas, Canadá, Estados Unidos, España, Portugal, Francia, Suiza, Italia, Reino Unido, Suecia, Noruega, Dinamarca, Alemania, Australia e India). De los participantes, 1657 fueron profesionales y 473 estudiantes. En cuanto a los trabajos presentados, fueron 193 trabajos en la sesión de presentaciones orales y 392 trabajos científicos en la sesión de pósters.

Finalmente agradecer a todos quienes hicieron posible este evento, esperando que sea de utilidad para la labor que cada uno de los microbiólogos desarrolla en los distintos países.

El comité organizador:

- **Presidente ALAM:** José Pereira
- **Vicepresidenta:** María Eugenia Flores
- **Secretaría General:** Ma. Eugenia León
- **Secretaría de finanzas:** Melissa Florentín
- **Secretaría de Comunicaciones:** Silvana Benítez
- **Secretaría de Actividad Social:** Amiliana Pineda

Secretaría Científica ALAM:

- Chyntia Díaz
- Minako Nagai
- Martha Marín
- Pasionaria Ramos
- Magalí Martínez
- Pablo Sotelo
- Karen Martínez
- Rosa Guillén
- María Laura Rojas

Comité organizador Congreso de Bioquímica:

- **Presidente:** Montserrat Blanes
- **Vicepresidenta:** Raquel Cáceres
- **Secretaría General:** Carmen Troche
- **Secretaría de finanzas:** Mercedes Álvarez
- **Secretaría de Comunicaciones:** Julio Becker
- **Secretaría de Actividad Social:** Carlos Jorge Gill

Secretaría Científica Congreso de Bioquímica:

- Graciela Russomando
- María Sthella Rolón Vázquez
- Elisa Salomón
- Loida Caballero
- Inocencia Peralta
- Natalia Celauro
- Martha Ascurra



ALAM 2021

**XXV CONGRESO LATINOAMERICANO
DE MICROBIOLOGÍA**

MICROBIOLOGÍA BÁSICA

Microbiología industrial, Biotecnología y Bioindustrias

Biosynthesis of natural colorant by *Talaromyces amestolkiae* in bioreactor cultivation

Tipo de presentación: Presentación oral.

Fernanda Oliveira

In the last years, there is a trend towards the replacement of synthetic colorants by natural ones. *Talaromyces amestolkiae* is a natural producer of colorants and its production is associated to respire-fermentative metabolism. Therefore, oxygen supply to the culture is an important variable affecting the performance of aerobic bioprocesses. In this work, cultivations were performed on 4-L Minifors II bioreactor (Infors, USA) to assess the effects of impeller type (Rushton turbine and Elephant ear (EE) impeller) on red colorant production by altering aeration mode (cascading and constant airflow). The following culture conditions were constant in all batches: temperature 30 °C, stirring at 100 rpm and pH 5.0, that consisted of three stages: pre-inoculum, inoculum and cultivation. For the pre-inoculum, a loop of the *T. amestolkiae* from stock culture was inoculated on a potato dextrose agar plate and incubated at 30 °C/7 days. Afterwards, 45 mycelial agar discs (8 mm diameter) of *T. amestolkiae* were punched out from the Petri plate and transferred to 500-mL Erlenmeyers flasks containing 100 mL of inoculum medium [(g/L-1): glucose (30), peptone extract (10) and meat extract (1.0), pH 7.0]. The inoculum volume was 10% (v/v) of the cultivation medium, which had the following composition (g/L-1): MSG (25), glucose (10), MgSO₄ (0.012), FeSO₄ (0.010), CaCl₂ (0.015), pH 5.0. All media was sterilized at 121 °C for 15 min. Concentration of extracellular red colorant was estimated by reading the absorbance of supernatant at 500 nm. Glucose consumption was analyzed through a high-pressure liquid chromatography (HPLC, Shimadzu - LC 20AD). After 168 h of cultivation, the maximum red colorant formation (28.7 UA500nm) was obtained under constant airflow condition at 4 Lmin⁻¹, 100 rpm of agitation speed by EE impeller. The volumetric oxygen transfer coefficient (kLa) was correlated to cell morphology and apparent viscosity. The mycelia agitated with RT tended to have a spherical dense pellet morphology compared with those cultured in the axial flow mixing system (EE impeller), for which morphological changes of the pellets increased apparent viscosity. This study shows the potential for using *T. amestolkiae* as a promising high yielding industrial source of water-soluble red colorant.

Microbiología industrial, Biotecnología y Bioindustrias

Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de un Desinfectante de Extractos Naturales, Sobre el Crecimiento de Bacterias y Hongos Provenientes de Ambientes Industriales e Institucionales

Tipo de presentación: Poster.

Sofía Cañón

La limpieza y desinfección en ambientes hospitalarios, industriales e institucionales es un procedimiento esencial para el control del riesgo de transmisión de enfermedades, así como de microorganismos contaminantes. Sin embargo, muchos desinfectantes químicos representan un riesgo para el medio ambiente debido a que pueden formar compuestos tóxicos de difícil manejo. El objetivo de este trabajo fue determinar la eficacia antimicrobiana de un desinfectante, cuyos principios activos son extractos naturales, lo que minimiza el impacto ambiental. Para ello, este desinfectante fue validado bajo las Normas Técnicas Colombianas 5150 y 5817. Adicionalmente, se comprobó su actividad sobre aislados de bacterias ácido-lácticas y ácido-acéticas contaminantes de industrias fermentativas, así como levaduras ambientales de una institución educativa. Los resultados obtenidos muestran que el desinfectante es eficaz para la desinfección de bacterias y hongos encontrados en ambientes institucionales e industriales, siendo una alternativa al uso de desinfectantes químicos. Palabras clave: Desinfectante, dilución-neutralización, NTC 5150, NTC 5817.

Financing: Universidad Santiago de Cali - Proyecto DGI No. 934-6211118-49

Microbiología clínica, Salud pública e innovación

Synergistic effects of DNase I and ciprofloxacin to disaggregate, anaerobic-grown, oral polymicrobial biofilms made by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans*.

Tipo de presentación: Poster.

Santiago Lattar

Background: Extracellular DNA (eDNA) is a major component of the biofilm matrix. *A. actinomycetemcomitans* requires eDNA for the formation of a cohesive biofilm while *Porphyromonas gingivalis* biofilms contain large amounts of eDNA. *Candida albicans* eDNA also plays a crucial role in the formation of biofilms. In this study we analyzed the dynamics of eDNA release by monospecies and polymicrobial biofilms grown under anaerobic conditions, and studied the synergistic effect of DNase I and ciprofloxacin to disaggregate oral biofilms made by these three species. Materials and Methods: *A. actinomycetemcomitans* JP2, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 and *C. albicans* ATCC 10231 were utilized. We first created a life-like substrate by incubating sterile saliva for 3 h at 37°C in 6-well plates. Saliva was then discarded and plates added with BHI containing hemin and menadione. Microorganism were inoculated at 2×10^6 cfu/ml and treated, or not, with DNase I (2 U/ μ l) and/or Ciprofloxacin (100 ng/ml) as indicated. Experiments were incubated for 72 h at 37°C, under anaerobic conditions. Biofilm counts (cfu/ml) were obtained and eDNA was quantified by qPCR. The ultrastructure was analyzed by confocal microscopy. Results: *P. gingivalis* significantly released more eDNA than *A. actinomycetemcomitans* and *C. albicans* in polymicrobial and monospecies biofilms. *A. actinomycetemcomitans* produced significantly more eDNA than *C. albicans*. A combined treatment with DNase I and ciprofloxacin significantly reduced the eDNA and cell density from polymicrobial and monospecies biofilms compared to an individual treatment. Reduction of eDNA in polymicrobial biofilms of *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* and *C. albicans* correlated with a decrease in the density of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* but not that of *C. albicans*. Accordingly, a decrease of eDNA in monospecies biofilms of *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* and *C. albicans* correlated with a decreased density of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* but not that of *C. albicans*. Conclusions: In monospecies and polymicrobial biofilms produced under anaerobic conditions *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* (bacteria) release more eDNA than *C. albicans* (yeast). Degradation of the eDNA matrix with DNase I may provide a novel therapeutic strategy to destabilize biofilm growth and improve ciprofloxacin sensitivity causing the reduction of the density of biofilm.

Financing: Sao Paulo State Research Foundation Grant Number: 2017/07339-4.

Enfermedades infecciosas desatendidas

Evaluación de la utilidad de un sistema bioluminiscente a partir del gen reportero luciferasa, para el estudio del metabolismo energético en *Leishmania* spp.

Tipo de presentación: Presentación oral.

Eyson Quiceno

En la búsqueda de nuevos medicamentos leishmanicidas con mayor eficacia y menor toxicidad que los actualmente disponibles, los genes reporteros representan una buena herramienta para la generación de modelos biológicos eficientes y confiables. El gen reportero de luciferasa, utiliza ATP como sustrato para generar luminiscencia, siendo un indicador del efecto de actividad leishmanicida en el metabolismo energético. Se ha probado su utilidad en especies de *Leishmania* del viejo mundo, pero la alta variabilidad entre especies, hace necesario evaluarlo en especies presentes en América, y definir si la transfección altera su comportamiento biológico. Métodos: El plásmido pLEXSY hyg2.1, amplificado en *E. coli* Dh5 α , se linealizó mediante digestión enzimática y se introdujo en promastigotes mediante electroporación. La selección se realizó con higromicina a la CL50 para cada cepa de *L. panamensis*, *L. braziliensis* y *L. infantum*. La inserción del gen se confirmó utilizando DMNPE como sustrato cuantificando la luminiscencia. La Naftoquinona y Tritón X100 se utilizaron como controles de pérdida de ATP. Por microscopía óptica se determinó la concentración infectiva 50 en macrófagos U937, así como la sensibilidad de las cepas silvestres y transfectadas a leishmanicidas de uso común. Resultados: Todas las cepas integraron el plásmido. El grado de luminiscencia observada sugiere que *L. panamensis* y *L. braziliensis* tienen más copias del gen, generando luminiscencia estable durante 1 hora. *L. infantum* tuvo poca luminiscencia, detectable solo durante 5 minutos. El ensayo de luminiscencia con Naftoquinona y Tritonx100 indican que el modelo permite detectar la pérdida de ATP asociada tanto a daño mitocondrial como alteraciones en membrana citoplasmática. La transfección alteró la infectividad de *L. infantum*, reduciéndola un 89% comparado con la cepa silvestre. La sensibilidad a medicamentos no se alteró, excepto para miltefosina donde se observó mayor sensibilidad en las cepas transfectadas. Conclusiones: La transfección en *L. braziliensis* y *L. panamensis* permitió establecer un modelo para el estudio del metabolismo energético en promastigotes de *Leishmania*, sin alteraciones en la infectividad y sensibilidad, lo cual será útil para determinar si nuevos leishmanicidas afectan la función mitocondrial. Por su parte en *L. infantum*, la transfección causa impactos negativos al disminuir su capacidad infecciosa.

Desarrollo de nuevos fármacos

Evaluación De La Actividad Antibacteriana De Extractos Metanólicos Y Hexánicos De Pulpa De Curuba (*Passiflora mollisima*)

Tipo de presentación: Poster.
Carlos Andrés Aranaga Arias

La resistencia intrínseca que muestran las micobacterias a algunos desinfectantes y antibióticos los convierte en un problema de salud pública creciente. Debido a que los productos naturales y sus derivados han mostrado ser una fuente de nuevos antimicrobianos, se evaluó la eficacia de los extractos hexánicos, etanólicos y metanólicos de cáscara y pulpa del fruto de la curuba (*Passiflora mollisima*), sobre el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* H37RA y *M. smegmatis* mc2155, empleando el método de microdilución en placa con rezasurina. Los resultados mostraron que el extracto hexánico de cáscara, logró inhibir el crecimiento micobacteriano a una concentración de 1 mg/ml. Esto demuestra el potencial de la curuba, para la obtención de moléculas bioactivas que sirvan de base para la obtención y diseño de nuevos fármacos.

Financing: Universidad Santiago de Cali. Proyecto DGI No. 349-621118-49

Medicina de precisión

Frecuencia y espectro de mutaciones en los genes BRCA1, BRCA2, PALB2, P53, PTEN, CHEK2, CDH1 en mujeres con cáncer de mama de 3 ciudades de Colombia

Tipo de presentación: Presentación Oral.

Alejandro Mejia

Las mutaciones germinales en los genes BRCA1 y BRCA2, generan riesgo de hasta un 80% de desarrollar cáncer de mama a lo largo de la vida, mientras en los genes TP53, PTEN, CDH1, PALB2, CHEK2 confieren un riesgo de vida de moderado a alto para esta enfermedad; es importante detectar las pacientes portadoras con el fin de darles consejería genética y terapia específica. Se han descrito mutaciones de alta frecuencia en Colombia: A1708E (BRCA1), 3450delCAAG y 3034delACAA (BRCA2). El objetivo de este estudio es determinar la frecuencia y el espectro de mutaciones en 7 genes en mujeres con diagnóstico confirmado de cáncer de seno y residentes de 3 ciudades de Colombia. **Materiales y métodos:** Se incluyeron 135 mujeres entre 25-77 años de edad diagnosticadas con cáncer de mama, en 6 centros de salud de Medellín, Cali y Barranquilla. Se obtuvo muestra de sangre para extracción del ADN por salting out y mediante secuenciación de nueva generación en la plataforma Ion Torrent, se obtuvieron las secuencias de los exones y 20 nucleótidos en la unión intrón exón de los genes: BRCA1, BRCA2, PALB2, P53, PTEN, CHEK2 y CDH1. Los datos se analizaron con el pipeline de Ion Torrent (Illumina). La clasificación de las variantes se hizo de acuerdo a las bases de datos: Clinvar, Leiden Open Variation Database y Wintervar. Las variantes nuevas, se clasificaron según la guía del Colegio Americano de Médicos Genetistas. se realizó amplificación múltiple de sondas dependiente de ligando para identificar grandes re-arreglos genómicos en BRCA1. Las mutaciones patogénicas fueron confirmadas por secuenciación de Sanger. Las mujeres recibieron consejería genética por un Oncogenetista certificado. **Resultados:** 6/135 pacientes presentaron mutaciones patogénicas. En BRCA1: C.5186C>A, C.178C>T y C.213-12A>G, en BRCA2: C.7007+1G>A y C.631+3A>G y en TP53: C.586C>T.

Conclusión: Este estudio es el único realizado en Colombia en el cual se han evaluado genes adicionales a BRCA1 y BRCA2 en mujeres con cáncer de mama no seleccionado, se encontró una frecuencia de mutaciones patogénicas del 4,4%. Tres mutaciones patogénicas fueron encontradas en regiones de splicing, lo cual demuestra la importancia de incluir estas regiones en la secuenciación.

Financing: Financiado por la convocatoria 842 del ministerio de ciencia, tecnología e innovación

RESISTENCIA A AGENTES ANTIMICROBIANOS

Marcadores de resistencia en aislamientos de *E. coli* obtenidos de muestras de carne picada de Tierra del Fuego

Maria Valeria Rumi¹, Elisa Crespi¹, Alicia Broglio¹, Bárbara Ghiglione², Roque Figueroa Espinosa², Ezequiel Nuke², Gabriel Gutkind², Luis Ambros³, Gabriela Albarellos³, José Di Conza², Adriana Bentancor Bentancor¹

(1) Universidad de Buenos Aires, Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chorroarín 280, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

(2) Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junin 954, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

(3) Universidad de Buenos Aires, Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Chorroarín 280, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Los antibióticos son herramientas esenciales en el tratamiento tanto para la salud humana como animal y su uso intensivo ha generado la aparición de microorganismos resistentes que causan cada año importantes pérdidas humanas y económicas. Estas cepas resistentes, o sus marcadores, pueden introducirse o diseminarse de diferentes maneras y el consumo de los alimentos, como la carne picada, es una de estas vías. Una causa de la resistencia en alimentos de origen animal es su uso en el sistema productivo, que podría evidenciarse por la identificación de residuos de antimicrobianos en las muestras. **Objetivo:** analizar la proporción de muestras de carne picada portadoras de aislamientos resistentes a ciprofloxacina (CIP) y gentamicina (GEN), caracterizar los mecanismos de resistencia potencialmente transferibles en aislamientos de *E. coli* y determinar la presencia de residuos de cefalexina, estreptomina y enrofloxacin. **Materiales y métodos:** se procesaron 105 muestras de carne picada procedentes de Tierra del fuego (93 carnicerías), enriqueciéndose en medio TSB, posteriormente se inocularon 100 µl del enriquecimiento en placas de Agar Mac Conkey (AMC) + CIP (1 µg/ml) o AMC + GEN (4 µg/ml) y se incubó ON a 37°C. Se estudiaron un máximo de 5 aislamientos por placa que fueron identificados mediante MALDI-TOF MS. Se analizó la presencia de genes de resistencia a aminoglucósidos, quinolonas (PMQR) y beta-lactamasas tipo CTX-M mediante PCR. Se detectó en al menos 38% de las muestras, seleccionadas al azar, la presencia de cefalexina por HPLC, y de enrofloxacin y estreptomina mediante ensayo inmunoenzimático (Ridascreen®). **Resultados:** En 27/105 muestras analizadas se recuperaron aislamientos en la placa AMC-CIP y se identificó *E. coli* en 5/27 muestras (23 aislamientos en total). Además, se recuperaron otras especies siendo las más frecuentes *Raoultella ornithinolytica*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Citrobacter braakii*. En 38/105 muestras analizadas se recuperaron aislamientos en la placa AMC-GEN y se identificó *E. coli* en 21/38 muestras (74 aislamientos en total). En estas muestras se encontraron otras especies como *Stenotrophomonas maltophilia* y *Providencia rettgeri*. Las 5 muestras con *E. coli* que crecieron en AMC-CIP, también crecieron en AMC-GEN. En 24/97 *E. coli* analizadas se detectó el gen ant(2'')-Ia y 11/97 el gen ant(3'')-Ia. Nueve de estos aislamientos comparten ambos marcadores de resistencia a aminoglucósidos. En cuatro de ellos (recuperados de la misma muestra) se detectó también la portación de blaCTX-M del grupo 2. Ninguno de estos aislamientos de *E. coli* mostró la presencia de determinantes PMQR. La carga de residuos fue para cefalexina <0,10 µg/g en 42 muestras analizadas, para estreptomina <0,02 µg/g en 81 muestras y para enrofloxacin <0,01 µg/g sobre 78 muestras estudiadas. **Conclusiones:** se detectaron aislamientos resistentes a CIP y GEN en carne picada portadores de marcadores de resistencia de relevancia clínica, inclusive a las cefalosporinas de tercera generación las cuales no fueron utilizadas como sistema de selección. No se detectaron residuos de los antibióticos estudiados. El monitoreo de la resistencia a diferentes antimicrobianos en bacterias comensales y zoonóticas es esencial para evaluar posibles medidas que puedan retrasar o impedir la emergencia y diseminación de bacterias resistentes. **Financing:** Universidad de Buenos Aires

Determination of antimicrobial resistance and metal tolerance profiles in *Pseudomonas* sp. isolates obtained after the Brumadinho dam disaster in Brazil

Micaela Santana Ramos¹, João Pedro Rueda Furlan¹, Lucas David Rodrigues dos Santos¹, Eliana Guedes Stehling¹

(1) Universidade de São Paulo, Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Avenida do Café, s/n, Ribeirão Preto, Brazil

Pseudomonas species are opportunistic pathogens that cause otitis, pneumonia and even bacteremia. They are ubiquitous bacteria that stand out for their presence in environmental samples, such as water, soil and sediment. The indiscriminate use and inappropriate disposal of domestic, hospital and industrial waste favour the selection of multidrug-resistant (MDR) bacteria, as well as their co-resistance to metals. Previous studies have shown broad antimicrobial resistance genes and high concentrations of metals throughout the areas affected by the Brumadinho dam disaster in Brazil. The aim of this study was to isolate and molecularly identify *Pseudomonas* sp. from environmental samples collected after the Brumadinho dam disaster, as well as to determine the antimicrobial resistance profile and metal tolerance profile of the isolates obtained. The environmental samples were inoculated in selective and differential media for the growth of species belonging to the genus *Pseudomonas*. The identification was performed using specific primers for the genus *Pseudomonas* and for the species *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens*. The antimicrobial resistance and metal tolerance profiles were performed using the agar dilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). A total of 34 isolates were recovered from waters, soils and sediments. Among these isolates, 20 were identified as *P. aeruginosa*, two as *P. fluorescens*, and the remaining 12 were classified as *Pseudomonas* sp. Regarding the antimicrobial resistance profile, the great majority (n=32) of the isolates was classified as MDR. These isolates presented high MIC values (8 to 256 mg/L), highlighting the resistance to aminoglycosides, tetracyclines, fluoroquinolones, and beta-lactams. Besides, MDR *Pseudomonas* sp. isolates showed tolerance values for metals ranging from 0.6 to 50 mmol/L, spotlighting high values for cobalt and copper. Therefore, these results showed a presence of MDR *Pseudomonas* sp. in environmental samples after the Brumadinho dam disaster and suggest the co-occurrence of antimicrobial resistance genes and metal tolerance genes in these isolates.

Financing: This study was supported by FAPESP [grant no. 2018/19539-0 and 2018/01890-3] and CAPES [grant no. 88882.180855/2018-01, 88887.519091/2020-00, 88887.314388/2019-00 and Finance code 001].

StaphNET-SA: Red de vigilancia genómica de *Staphylococcus aureus* en Sudamérica

Sabrina Di Gregorio¹, Jesús Vielma Vallenilla¹, María Sol Haim¹, Lucía Rago¹, Ángela Famiglietti², Liliana Fernandez Canigia³, Gabriela Rubinstein⁴, Martha Helena von Specht⁵, Melina Herrera⁶, Carolina Aro⁷, Josefina Campos⁸, Marcelo Galas⁹, Norah Balderrama Yarhui¹⁰, Agnes Figueiredo¹¹, Nilton Lincopan¹², Alessandro Silveira¹³, Miryan Falcon¹⁴, Rosa Guillén¹⁵, Teresa Camou¹⁶, Gustavo Varela¹⁷, Consorcio StaphNET-SA¹⁸, Silvia Argimón¹⁹, David Aanensen¹⁹, Marta Mollerach¹

(1) Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Buenos Aires, Argentina

(2) Universidad de Buenos Aires, Laboratorio de Bacteriología, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Buenos Aires, Argentina

(3) Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina

(4) Hospital Privado Regional del Sur, Sanatorio del Sol, Bariloche, Argentina

(5) Universidad Nacional de Misiones, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Misiones, Argentina

(6) Universidad Adventista del Plata, Facultad de Ciencias de la Salud, Entre Ríos, Argentina

(7) Hospital de Niños Dr. Orlando Alassia, Santa Fé, Argentina

(8) INEI-ANLIS, Plataforma de Genómica y Bioinformática, Buenos Aires, Argentina

(9) Organización Panamericana de la Salud, Vienna (VA), Estados Unidos

(10) Hospital del Niño Manuen Ascencio Villarroel, Cochabamba, Bolivia

(11) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Rio de Janeiro, Brasil

(12) Universidade de São Paulo, Department of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, Sao Paulo, Brasil

(13) Universidade Regional de Blumenau, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Blumenau, Brasil

(14) Laboratorio Central de Salud Pública, Dpto. Bacteriología y Micología. Sección Antimicrobianos, Asunción, Paraguay

(15) Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Químicas, Asunción, Paraguay

(16) Ministerio de Salud Pública, Departamento de Laboratorios de Salud Pública, Unidad de Bacteriología, Montevideo, Uruguay

(17) Universidad de la República, Facultad de Medicina, Cátedra de Bacteriología y Virología, Montevideo, Uruguay

(18) Centros participantes, Sudamérica

(19) Centre for Genomic Pathogen Surveillance, Big Data Institute, University of Oxford, Wellcome Genome Campus, Reino Unido

Introducción y objetivos: Las bacteriemias por *Staphylococcus aureus* representan un problema mundial por su alta morbilidad y mortalidad. La necesidad de mejorar significativamente la respuesta regional a los desafíos planteados por la resistencia a los antimicrobianos, motivó la formalización de la red StaphNET-SA en el Cono Sur, la cual apunta a incorporar la genómica en la vigilancia de *S. aureus*. El objetivo de este trabajo es reportar las características epidemiológicas y el perfil de sensibilidad a antimicrobianos de aislamientos de *S. aureus* recuperados de bacteriemias. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio observacional prospectivo de vigilancia de *S. aureus* causantes de bacteriemia en 59 hospitales participantes de Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay. Cada centro recolectó los primeros 10 aislamientos primarios (5 SAMS y 5 SAMR) recuperados de bacteriemias durante abril-octubre de 2019. En caso de no llegar a recolectar los 5 aislamientos SAMS o los 5 SAMR en el período del estudio, se completó la muestra de 10 con aislamientos SAMR o SAMS, respectivamente. Se registraron además datos epidemiológicos y de sensibilidad a antibióticos para cada cepa. **Resultados:** Se recolectaron un total de 443 aislamientos. Los porcentajes de SAMS y SAMR fueron 58.2% y 41.8%, respectivamente. Un 49.4% de las infecciones fueron de origen en la comunidad (CA), 46% de origen en el hospital (HA), y 4.6% no contaron con ese dato (SD). Las proporciones de HA y CA se mantuvieron similares al discriminar por SAMR o SAMS. Los focos de las bacteriemias más frecuentes fueron infecciones de piel y partes blandas (23.7%), respiratorias (19.41%), y catéter (16.93%). Predominaron los aislamientos recuperados de pacientes masculinos (64.8%), adultos >18 años (71.1%). Los datos disponibles de No-Sensibilidad (%I+%R) a antibióticos para SAMS y SAMR respectivamente, son los siguientes: eritromicina (31% y 30.2%), clindamicina (24.4% y 23.2%), gentamicina (8.53% y 22.7%), ciprofloxacina (4.65% y 12.9%), levofloxacina (1.94% y 12.44%), rifampicina (0.775% y 3.78%), trimetoprima-sulfametoxazol (0.39% y 1.62%), minociclina (0.39% y 0.54%). No se informaron aislamientos resistentes a linezolid o vancomicina. Al comparar SAMR-HA vs SAMR-CA se vió un mayor porcentaje de No-Sensibilidad en SAMR-HA para eritromicina (46.3% vs 17.5%), clindamicina (40.0% vs 10.3%), gentamicina (30.0% vs 18.6%), ciprofloxacina (22.5% vs 6.19%), levofloxacina (16.3% vs 7.21%) y rifampicina (6.25% vs 2.06%). **Conclusiones:** La prevalencia de bacteriemias por *S. aureus* CA y HA fue similar. Piel y partes blandas fue el foco más frecuente. SAMR se mantiene como responsable frecuente y debe considerarse en la decisión terapéutica inicial. La resistencia asociada a SAMS y SAMR fue similar con excepción de gentamicina, quinolonas y rifampicina que fue mayor en SAMR. A su vez, los SAMR-HA presentaron mayores niveles de resistencia acompañante que los SAMR-CA. La información epidemiológica obtenida en este primer estudio de la red StaphNET-SA será complementada con las secuencias de genomas completos de los aislamientos recuperados, para extraer información relevante, incluyendo el resistoma, viruloma, secuenciotipo y las relaciones filogenéticas entre los aislamientos y servirán como referencia para estudios de vigilancia genómica de *S. aureus* en Sudamérica.

El proyecto MicroMundo: fomentar la cultura científica descubriendo nuevos antibióticos

Carmina Rodríguez Fernández¹, Víctor Jiménez Cid¹

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Plaza de Ramón y Cajal s/n, 28040- MADRID, España

MicroMundo es una iniciativa coordinada desde la Sociedad Española de Microbiología (SEM) y asociada a los proyectos internacionales Tiny Earth (2018, Wisconsin Institute for Discovery) y Small World Initiative (SWI; Yale University, 2012) creados por el equipo de la Dra. Jo Handelsman en EEUU, donde han alcanzado un gran éxito. Sus objetivos son: acercar la cultura científica y la investigación biomédica a jóvenes estudiantes para fomentar vocaciones investigadoras y científicas, especialmente hacia los estudios STEM (Science, Technology, Engineering & Mathematics). Para ello utiliza una estrategia de "studentsourcing" dirigida al descubrimiento de nuevos antibióticos. El planteamiento experimental es similar al célebre hallazgo casual de la penicilina por Alexander Fleming, si bien de manera dirigida y participativa. En la Universidad Complutense de Madrid (UCM), trabajamos el proyecto desde 2016 de manera pionera en la Europa continental, con una novedad respecto al norteamericano: se integran diversos niveles educativos mediante una estrategia de Aprendizaje-Servicio (ApS) que integra varios niveles educativos. Dentro de la comunidad MicroMundo@UCM, los investigadores son por estudiantes de Centros de Enseñanza Secundaria y Bachillerato, tutorizados por alumnos universitarios de Grado en Ciencias de la Salud y Máster. Su tarea conjunta es descubrir, a partir de muestras locales de suelo seleccionadas por los alumnos pregraduados, nuevos microorganismos, así como evaluar su potencial para la producción de nuevos antibióticos que sean activos frente a las denominadas bacterias ESKAPE (Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa y Enterobacter spp.). Si bien, y por razones de bioseguridad, los bachilleres realizan los ensayos con bacterias no patógenas, próximas a las mencionadas. Desde el inicio del proyecto, más de 20 centros educativos recibieron la visita de equipos MicroMundo, integrado cada uno por 4-7 estudiantes universitarios. En total unos 150 estudiantes UCM y más de 500 estudiantes de ESO y Bachillerato participan anualmente en el proyecto en la Comunidad de Madrid, procesando más de 250 muestras de suelo y aislando decenas de microorganismos con bioactividad antibiótica. Además de aplicar el método científico, los estudiantes elaboran una Guía básica de laboratorio, con los resultados obtenidos y su interpretación y los presentan en diferentes foros; además contribuyen al mejor conocimiento del problema del abuso de antibióticos en diversas actividades de divulgación a la sociedad. Durante los cursos 2019-20 y 2020-21, el escenario pandémico COVID-19 obligó a trasladar muchas actividades MicroMundo al entorno virtual, desde donde hemos enfocado a la divulgación de la resistencia a antibióticos en un contexto de Salud Global. Este esfuerzo ha dado lugar al recién estrenado entorno virtual www.esmisionposible.com, un portal sobre resistencia a antibióticos en el que se exhibirán las iniciativas creadas por los estudiantes. Coordinada desde la SEM, la red MicroMundo integra casi treinta Universidades e Institutos de Investigación de toda la Península Ibérica, incluyendo las Universidades de Santiago de Compostela, La Coruña, Vigo, Autónoma de Barcelona, Miguel Hernández (Alicante), Navarra, Castilla-La Mancha, Santander, Salamanca, Valencia, Zaragoza, CEU Cardenal Herrera, León, Islas Baleares, la Rioja, Murcia, Sevilla, Granada, Jaén y Oporto, entre otras. Bienvenido a MicroMundo.

Molecular typing of multidrug- and colistin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from soil samples

João Pedro Rueda Furlan¹, Eliana Guedes Stehling¹

(1) Universidade de São Paulo, Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Avenida do Café, s/n, Ribeirão Preto, Brazil

Antimicrobial resistance emerges as a public health problem and involves several spheres, including the environment. Some *Escherichia coli* lineages have been described as international high-risk clones since are responsible for causing intestinal and extra-intestinal infections and spreading antimicrobial resistance genes worldwide. Studies focusing on epidemiological data have shown the dissemination of MDR *E. coli* in environmental samples, in addition to the hospitals and foods. Therefore, this study aimed to perform a molecular typing in MDR *E. coli* isolates from agricultural and non-agricultural soils. Forty-one isolates that exhibited multidrug resistance to polymyxins, Beta-lactams, fluoroquinolones, aminoglycosides, tetracyclines, sulphonamides, and phenicols, were selected. Phylogenetic groups were carried out by conventional PCR. The sequence types (STs) were determined by multilocus sequence typing (MLST) using the Achtman scheme. The *fimH* allele was determined by amplification followed by Sanger sequencing of the *fimH* gene. Four phylogenetic groups were detected, being the phylogenetic group A the most prevalent, followed by B1, D and F. MDR *E. coli* isolates belonged to 38 different STs, highlighting the 20 STs that harbored genes encoding extended-spectrum β -lactamases and plasmid-mediated AmpC β -lactamases. Among the STs found, three (ST345, ST1723 and ST4477) were detected twice. Among the *fimH* alleles, H31, H24, and H54 were the most prevalent. Colistin-resistant *E. coli* isolates were assigned as A-ST48-H37, B1-ST58-H32, A-ST1434-H53, B1-ST1723-H38, A-ST1782-H32, and B1-ST2098-H86. Furthermore, *E. coli* A-ST Cplx 10 and B1-ST Cplx 155 isolates were recovered from agricultural and non-agricultural soils. Curiously, an *E. coli* isolate was assigned as F-ST117, one of the main causes of extraintestinal infections in poultry. MLST analysis showed a great diversity of STs, which have been reported to cause infections worldwide. Therefore, these results contribute to the monitoring of MDR- and colistin-resistant *E. coli* isolates in the human-animal-environment interface.

Financing: This study was supported by FAPESP [grant no. 2018/19539-0 and 2018/01890-3] and CAPES [grant no. 88882.180855/2018-01 and Finance code 001].

Diversidad Genética inter e intrapaciente de aislamientos de *K. pneumoniae* con blaKPC en un hospital de tercer nivel en Colombia. Identificación de una nueva plataforma de movilización relacionada con la familia Tn3.

Javier Antonio Escobar Pérez¹, Deisy Abril¹, Erika Vergara², Diana Palacios³, Aura Lucía Leal², Ricaurte Alejandro Marquez¹, Johana Madroñero¹, Zayda Lorena Corredor Rozo¹, Zandra De La Rosa³, Carlos Nieto¹, Natasha Vanegas⁵, Jorge Cortés⁴

(1) Universidad El Bosque, Laboratorio de Genética Molecular Bacteriana, Colombia

(2) Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina y Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas,, Colombia

(3) Fundación Santa Fe de Bogotá, Departamento de Patología y Laboratorios, Colombia

(4) Universidad Nacional de Colombia, Bogota, Facultad de Medicina, Departamento de Patología, Colombia

(5) University of Technology, Sydney, Australia, The i3 institute, Faculty of Science, Australia

La diseminación global de la resistencia a carbapenémicos en *Klebsiella pneumoniae* ha estado asociada principalmente al clon ST258. En Colombia el clon ST258 ya es endémico. En los últimos años nuevos clones han emergido albergando el gen blaKPC. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto post-endémico de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* albergando el gen blaKPC en un hospital de alta complejidad en Colombia. Se realizó un estudio retrospectivo, analizando las características clínicas de 68 pacientes, de los cuales fueron identificados 139 aislamientos. Los aislamientos fueron caracterizados molecularmente, y en los clones representativos su genoma fue secuenciado y los elementos genéticos móviles fueron analizados. Se encontró una alta variabilidad genética en los aislamientos analizados (población policlonal), los cuales se agruparon en 45 clones diferentes, siendo el ST258 el más frecuente, pero no el mayoritario (sólo 23%). Notablemente una variabilidad en aislamientos recuperados en un mismo paciente. De los 26 pacientes que presentaron reinfecciones, 16 tuvieron aislamientos con diferentes perfiles de susceptibilidad. Interesantemente, en un único paciente tres clones de *K. pneumoniae* fueron identificados durante su estancia (ST258, ST504, and ST846) y un aislamiento de *K. variicola* isolate (ST182, KPC positivo). En este paciente, la secuenciación del genoma mostró que el gen blaKPC fue movilizado por dos plataformas genéticas, el Tn4401b (ST258), más frecuentemente reportado, y el Tn6454 (ST504 and ST846), una nueva plataforma clasificada como NTEKPC-Ile y relacionada con la familia Tn3. Esta misma plataforma fue identificada en el aislamiento de *K. variicola*, sugiriendo una diseminación activa a otras especies. En conclusión, los análisis genómicos comparativos mostraron que dos transposones relacionados con la familia Tn3 han movilizado el gen blaKPC en plásmidos diferentes en *K. pneumoniae*. Diferentes clones (no-ST258) han emergido por la adquisición del gen blaKPC en nuevas plataformas genéticas. Adicionalmente, la diversidad de clones de *K. pneumoniae* en un mismo paciente podría tener un impacto en la efectividad del tratamiento antibiótico.

Financing: Ministerio de Ciencia, Tecnología e innovación Colombia-MinCiencias (Grant number 1308-77758007), Universidad El Bosque (Grant number 605-2018), UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, Código Hermes: 37695.

Caracterización molecular de carbapenemasas en bacilos gramnegativos circulantes en hospitales de Paraguay. Primer cuatrimestre 2021.

Nancy Lorena Melgarejo Touchet¹, Sofia Busignani¹, Mariel Brites¹, Miryan Falcon¹, Evelyn Lopez², Raquel Blasco³, Rocio Arguello⁴, Anibal Kawabata⁵, Marcela Laconich⁶, Carolina Rojas⁷, Martin Olmedo⁸, María Marta González Lezcano⁹, Juana Salinas¹⁰, Karina Abreu¹¹, Jazmin Pereira¹², Eva Mereles¹³, Mario Fabian Martínez Mora¹

(1) Laboratorio Central de Salud Pública. Dpto. Bacteriología y Micología, Av. Venezuela y Teniente Escurra, Asunción, Paraguay

(2) Hospital Nacional de Itaugua, Av. Itaugua Guazu, Itaugua, Paraguay

(3) Hospital Regional de Ciudad del Este, Ciudad del Este, Paraguay

(4) Hospital de Clínicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción., Avenida Mariscal López y Coronel Casal., San Lorenzo, Paraguay

(5) Hospital del Trauma "Dr. Manuel Giani", Av. General Santos y Teodoro Mongelos, Asunción, Paraguay

(6) Instituto de Previsión Social "Hospital Central", Av. Sacramento y Capitán Lombardo, Asunción, Paraguay

(7) Instituto de Medicina Tropical, Av. Venezuela y Florida, Asunción, Paraguay

(8) Hospital General Pediátrico "Niños de Acosta Ñu", Av. Arnaldo Bacigalupo, San Lorenzo, Paraguay

(9) Centro Médico Bautista, Av. República Argentina y Campos Cervera, Asunción, Paraguay

(10) Sanatorio AMSA, Teniente Fariña y Capitán Figari, Asunción, Paraguay

(11) Meyer Lab, Coronel Irazábal y Mariscal Estigarribia, Asunción, Paraguay

(12) Sanatorio Migone, Eligio Ayala 1293, Asunción, Paraguay

(13) Laboratorio Epidemiológico Regional de Alto Paraná. Facultad de Ciencias de la Salud, Calle Andre Moleon, Minga Guazu, Paraguay

La resistencia a los antimicrobianos (RAM), problemática nacional y mundial, considerada una pandemia de lenta evolución que precede a la ocasionada por el SARS-CoV-2, representa para el futuro un problema de gran índole por el uso inapropiado e indiscriminado de los antimicrobianos de amplio espectro en la profilaxis de las co-infecciones en pacientes internados por COVID-19. Durante el primer cuatrimestre del año, los laboratorios de bacteriología de nuestro país han referido observar un aumento inusual en el número de aislamiento de gérmenes multirresistentes, sobre todo de bacilos gramnegativos, los cuales han sido remitidos la Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP) para los estudios de genotipificación. Objetivo Caracterizar los genes de resistencia a carbapenemes en bacilos gramnegativos aislados en hospitales de Paraguay durante el primer cuatrimestre del 2021. Materiales y Métodos Estudio observacional y prospectivo de corte transversal; realizado en aislamientos de bacilos gramnegativos provenientes de 11 centros colaboradores de la Red Nacional de Vigilancia de la RAM, remitidos al LCSP entre enero y abril de 2021, para la confirmación de portación de carbapenemasas, y su genotipificación. Los aislamientos, un total de 456 cepas, fueron remitidos según criterios de sospecha de portación de carbapenemasas (halos de inhibición y Concentración Inhibitoria Mínima de carbapenemes y ceftazidima). En el LCSP fueron confirmadas las identificaciones bacterianas por métodos fenotípicos (pruebas bioquímicas manuales, automatizadas) y genotípicos; la detección de los genes de resistencia enzimática por métodos moleculares (reacción en cadena de la polimerasa múltiple) blaOXA-51, blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-48, blaOXA-58, blaNDM, blaKPC, blaIMP, blaVIM y mcr-1; además, la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima por microdilución en caldo. Resultados: De los 456 aislamientos, 360 correspondieron a bacilos gramnegativos no fermentadores: 346 *Acinetobacter baumannii* y 14 *Pseudomonas aeruginosa*; y, 96 fueron miembros de Enterobacterales, siendo prevalente *Klebsiella pneumoniae* (81). Todos los aislamientos de *Acinetobacter baumannii* resultaron ser productores de carbapenemasas: OXA-23 (94%), NDM (4%), NMD+OXA-58 (2%); en *Pseudomonas aeruginosa*, 7 de los 14 aislamientos (50%) fueron portadores de metalobetalactamasa genotipo NDM (100%) y en los 7 restantes no fueron detectadas portación de carbapenemasa. En todas las cepas de Enterobacterales fueron confirmadas las carbapenemasas NDM (92%) y KPC (8%). La resistencia a colistina en las cepas estudiadas fue 1,8% en *Acinetobacter baumannii*, 17% en *Pseudomonas aeruginosa* y 27% en Enterobacterales; resultando todas negativas para el gen mcr-1. Conclusión El LCSP recibió durante el primer cuatrimestre del año gran número de cepas para confirmación de resistencias inusuales, dejando en evidencia la alta prevalencia de las mismas en los nosocomios, en donde la resistencia plasmídica a los carbapenemes es endémica. En *Acinetobacter baumannii*, la carbapenemasa prevalente fue OXA-23; en *Pseudomonas aeruginosa* solo fue confirmada la metalobetalactamasa NDM. En Enterobacterales, la carbapenemasa NDM desplazó a KPC (primera carbapenemasa detectada en Paraguay). Al problema de la alta diseminación de carbapenemasas se suma la reducción de sensibilidad a colistina, principalmente en Enterobacterales, importante alternativa terapéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas ocasionadas por cepas multirresistentes en nuestro país. Palabras clave: resistencia antimicrobiana, carbapenemasa, bacilos gramnegativos, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacterales

Perfil fenotípico de resistencia a los antimicrobianos y prevalencia de BLEE en *Morganella morganii* aislado de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad en la ciudad de Londrina-Paraná, Brasil

Luana Carvalho Silva¹, Matheus Silva Sanches¹, Victor Hugo Montini¹, Bruno Henrique Dias de Oliva¹, Renata Katsuko Takayama Kobayashi², Eliana Carolina Vespero³, Sérgio Paulo Dejato da Rocha¹

(1) Laboratório de Bacteriologia (LABAC), Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, km 380 - Campus Universitário, PR, 86057-970, Londrina, Brasil

(2) Núcleo Integrado de Pesquisa (NIP3), Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas,, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, km 380 - Campus Universitário, PR, 86057-970, Londrina, Brasil

(3) Laboratório de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologia, Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Av. Robert Koch, 60 - Operária, Londrina - PR, 86038-440, Londrina, Brasil

La resistencia es un fenómeno común que se desarrolla en respuesta a la exposición de microorganismos a antimicrobianos. Sin embargo, con el uso inadecuado de estos compuestos, la resistencia se ha convertido en un grave problema de salud pública. La bacteria *Morganella morganii*, a pesar de ser una bacteria Gramnegativa, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, que normalmente se encuentra en el intestino del ser humano y en el medio ambiente, en individuos inmunosuprimidos, tiene la capacidad de desarrollar un amplio espectro de infecciones, especialmente infecciones del tracto urinario (UIT). Así, el presente estudio tuvo como objetivo detectar cepas multirresistentes y productoras de β -lactamasa en 70 aislados de *UTI M. morganii* de la comunidad de Londrina / PR, durante el período de 2016 a 2020. Los aislamientos obtenidos se sometieron a análisis del perfil de resistencia fenotípica mediante el sistema Vitek 2®, ensayando antimicrobianos pertenecientes a la 1ª, 2ª, 3ª y 4ª generación de Cefalosporinas, Penicilinas, Aminoglucósidos, Quinolonas, Monobactamas, Sulfonamidas y Carbapenémicos. Los aislamientos que demostraron resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación se probaron mediante la técnica de disco combinado para la confirmación fenotípica de la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y la posterior reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del CTX-M-1, 2, 8, 9 y 25 grupos. Los resultados mostraron que 20 (28,75%) de los aislamientos fueron resistentes a Gentamicina y Ceftriaxona, 9 (12,85%) a Ceftazidima y Aztreonam, 11 (15%) a Cefepima, 7 (10%) a Piperacilina + Tazobactano, 33 (47,14%) a Ciprofloxacino, 32 (45,71%) a Norfloxacino, 53 (75,71%) a Ácido Nalidíxico y 31 (44,28%) a Sulfametoxazol + Trimetoprim, y ninguno de los aislamientos mostró resistencia a Carbapenémicos o Amikacina. De los 70 aislamientos estudiados, 9 podrían clasificarse como productores de β -lactamasa y portadores del grupo CTX-M. En cuanto al grupo CTX-M, 7 (77,77%) de los aislamientos presentaron el grupo CTX-M-1, 1 (11,11%) CTX-M-2 y 2 (22,22%) CTX-M- 9, la presencia de CTX -M-8 o 25 no se detectó en ningún aislado. De los antimicrobianos probados, los Carbapenémicos y la Amikacina demostraron ser más efectivos para el tratamiento de los aislados probados, mientras que el Ácido nalidíxico fue menos efectivo. El grupo CTX-M más prevalente encontrado en nuestro estudio fue CTX-M-1. Por tanto, se concluye que la presencia de grupos CTX-M en los aislados de *M. morganii* que circulan en la comunidad es sumamente preocupante. Así, el uso controlado y racionalizado de antimicrobianos reduce la posibilidad de aparición de bacterias selectivas y resistentes, con el objetivo de reducir la selección de cepas multirresistentes y portadoras de genes BLEE, facilitando así el abordaje del tratamiento.

Financing: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Caracterización de carbapenemasas en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* en Uruguay

Lucía Cristófolo¹, Mariana Lopez-Vega², Teresa Camou², Rafael Vignoli¹, Gabriela García-Gabarrot², Virginia García-Fulgueiras¹

(1) Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República - UdelaR, Dr. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

(2) Unidad de Bacteriología, Departamento de Laboratorios, Ministerio de Salud Pública, Dr. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

En bacilos Gram negativos la resistencia a antimicrobianos es un problema creciente y esto es preocupante en países en desarrollo en donde no se cuenta con todo el arsenal antimicrobiano disponible, como sucede en Uruguay. Por ello es fundamental el conocimiento de los patrones de resistencia local para optimizar la eficiencia de las terapias empíricas. El principal mecanismo de resistencia a carbapenemes en Enterobacterales es la producción de enzimas carbapenemasas y su diseminación constituye un problema mundial de salud pública. Los objetivos de este trabajo fueron caracterizar y estudiar aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productores de carbapenemasas recolectados durante el programa de vigilancia del Ministerio de Salud Pública de nuestro país (2019). La identificación y perfil de susceptibilidad antibiótica se realizó mediante Vitek 2 System (interpretación según EUCAST 2021). Se realizó caracterización fenotípica y genotípica de carbapenemasas mediante kit confirmatorio ROSCO y PCR con cebadores específicos, respectivamente. Para *K. pneumoniae* se realizó PCR para *pilV* (ST258). Se estudiaron 49 aislamientos productores de carbapenemasas provenientes de distintos centros de salud del interior y de la capital del país. Los aislamientos identificados fueron: 39 *K. pneumoniae* (80%), 10 *Escherichia coli* (20%). El origen de los aislamientos fue: 24 urocultivo, 5 hemocultivo, 5 secreciones respiratorias, 4 heridas, 3 pericater, 1 de cada uno de líquido peritoneal, absceso, drenaje, hisopado rectal, líquido biliar, líquido de aspiración, lavado bronquio-alveolar, biopsia. Los perfiles de resistencia a antibióticos fueron: 49 ampicilina-sulbactam (100%), 48 piperacilina-tazobactam (98%), 49 cefotaxime (100%), 49 ceftazidime (100%), 48 cefepime (98%), 49 imipenem y meropenem (100%), 17 amikacina (35%), 23 gentamicina (47%), 29 a ciprofloxacina (59%) y 46 trimetoprim-sulfametoxazol (94%). Mediante test fenotípico se determinó que: en 31 casos (63%) las enzimas fueron de clase B (metalo-carbapenemasas), en 17 (35%) de clase A (serin-carbapenemasas) y en 1 caso (2%) de clase D (OXA). Por PCR se determinó que las metalo-carbapenemasas fueron codificadas por *bla*NDM, las serin-carbapenemasas por *bla*KPC y la de clase D por *bla*OXA-48. En *K. pneumoniae* los genes detectados se distribuyeron según: 24 *bla*NDM, 14 *bla*KPC, 1 *bla*OXA-48. En 5 cepas se identificó ST258: 4 con *bla*NDM y 1 con *bla*KPC. En *E. coli* la distribución fue: 7 *bla*NDM y 3 *bla*KPC. Dentro de las principales conclusiones se destaca el rol preponderante de *K. pneumoniae* como especie productora de carbapenemasas en la colección estudiada. Se observa que ST258 no es un secuenciotipo relevante en nuestra epidemiología en relación a la propagación de carbapenemasas durante el período de estudio, como lo es en otras áreas geográficas. Es notoria la identificación de cepas multirresistentes, lo que es habitual en productores de carbapenemasas. NDM fue la principal enzima detectada. Se enfatiza la necesidad de continuar con la realización de estudios de vigilancia epidemiológica para conocer los mecanismos de resistencia circulantes y así poder optimizar los recursos terapéuticos disponibles.

Caracterización molecular de aislamientos clínicos de *Escherichia coli* ST131 en Perú

Arturo Gonzales Rodriguez¹, Guillermo Uceda Campos², Edgar Gonzales Escalante³

(1) Universidad de Piura, Facultad de Medicina Humana, Calle Mártir José Olaya 162, Miraflores-, Lima, Perú

(2) Universidade de São Paulo, Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, Sao Paulo, Brasil

(3) Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Calle Junín 956, Buenos Aires, Argentina

Escherichia coli, secuenciotipo (ST) 131, se clasifica clínicamente como una *E. coli* patógena extra intestinal (ExPEC) con amplia capacidad de diseminación tisular, principalmente al tracto urinario, que con frecuencia puede progresar a bacteriemia. Presenta un perfil de multidrogoresistencia (MDR) y alberga diversos factores de virulencia, los cuales le otorgan capacidad de colonización y supervivencia. El objetivo de este estudio fue caracterizar molecularmente aislamientos de *E. coli* ST131 recuperados de muestras clínicas en el Perú. Método Se colectaron tres aislamientos de *E. coli* en 2018 de muestras clínicas de orina. La secuenciación del genoma completo (WGS) se realizó mediante lecturas cortas (NextSeq, plataforma de PE de extremo emparejado de Illumina). El ensamblaje del genoma de novo se realizó con Metaassembler y los genes se predijeron y anotaron utilizando el software PROKKA, y también se curaron manualmente. El multilocussecuenciotipo (MLST), genes AMR, factores de virulencia, replicones de plásmidos, síntesis de flagelos (H) y loci de lipopolisacáridos (O) se identificaron utilizando las herramientas bioinformáticas: MLSTfinder, ResFinder, VirulenceFinder, PlasmidFinder (<http://www.genomicepidemiology.org/>). Resultados El análisis de WGS confirmó que los tres aislados pertenecían al ST131, identificadas con el serotipo O25:H4, grupo B2 de Clermont y pertenecientes al clado "C", subclado fimH30-Rx. En dos de los aislados se identificaron los replicones de plásmidos IncFIB, IncFIA, IncFII y Col156. En el aislamiento restante no se identificó grupos de incompatibilidad. Además, se identificaron una pléthora de genes potencialmente transferibles que confieren resistencia a β -lactámicos (blaCTX-M-15, y blaOXA-1), fenicoles (cmlA1 y catB3), rifampicina (arr-3), sulfonamidas (dfrA17), aminoglucósidos [aac (3)-IIa, ant (2'')-Ia, ant (3'')-Ia, aadA5, aadA1 y aac (6') -Ib-cr5], macrólidos [mdf(A) y mph(A)], tetraciclinas [tet(A)] y fluoroquinolonas [aac (6') -Ib-cr5]. También se detectaron mutaciones en GyrA S83I y D87N, relacionadas con la resistencia a quinolonas. También fueron identificados genes relacionados a la captación del hierro (ybt, iuc, chu, ent). Se identificó al gen papGII, importante en la diseminación de las UPEC al tracto alto urinario. Finalmente, se identificaron los virotipos E, D y F, con una relevante presencia de la exotoxina sat y una menor distribución en los genes hlyA y cnf1. Conclusión Este es el primer reporte de un aislamiento clínico de *E. coli* ST131 en Perú. La presencia de distintos clones de *E. coli* productores de CTX-M-15 en el país, incluyendo el ST131 ampliamente diseminado a nivel mundial, nos alertan sobre las potenciales dificultades en el manejo de las infecciones urinarias de origen hospitalario y comunitario. En este sentido, la aparición de cepas MDR o un clon de alto riesgo es un motivo de grave preocupación que respalda la implementación de estudios de vigilancia genómica para prevenir el establecimiento de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria de difícil tratamiento.

Financing: Este estudio fue financiado por la Facultad de Medicina de la Universidad de Piura, Lima, Perú.

IDENTIFICACIÓN DE *E. coli* MULTIDROGORESISTENTES AISLADOS DE AVES DE CRIANZA INTENSIVA EN LIMA, PERÚ

Carla Duran¹, Susana Asencios¹, Yennifer Ignación¹, César Bejarano¹, Dennis Carhuaricra¹, Luis Luna¹, **Lenin Maturrano Hernández¹**

(1) Grupo SANIGEN, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

El uso extensivo de antibióticos en la producción animal como la crianza de aves condiciona la emergencia y expansión de genes de resistencia a antibióticos (GRA) y es una amenaza latente a la salud pública. Considerando la alarmante emergencia de resistencia a antibióticos (RA) en hospitales de Lima resulta importante conocer la situación de la RA en la producción de animales de consumo, por ello el presente estudio tuvo como objetivo identificar *E. coli* multidrogoresistentes a partir de muestras de fecales de aves de carne. Se tomaron muestras en 7 granjas de producción avícola y se recolectaron 10 pools de muestras de heces por granja y cada pool estuvo conformada por 6 muestras de heces. Se realizó el aislamiento e identificación microbiológica según métodos estándar, y la identificación de los aislados fueron corroboradas por PCR. Para la evaluación de la resistencia fenotípica se utilizó la técnica de Kirby-Bauer siguiendo las recomendaciones del CLSI (2009) para la prueba de sensibilidad e interpretación de halos de inhibición. Se evaluaron 167 aislados de *E. coli* frente a 16 antimicrobianos: Ampicilina, Amoxicillin-clavulanate, Piperacillin + tazobactam, Cefalotin, Ceftriaxone, Cefotaxime, Cefepime, Aztreonam, Imipenem, Oxitetraciclina, Doxycycline, Ciprofloxacina, Levofloxacino, Gentamicina, Cloranfenicol, Trimethopim-sulfamethoxazol, Colistina Sulfato. Los puntos de corte y definición de resistente o sensible se basaron en lo especificado por CLSI (2009). Las cepas que presentaron resistencia a tres o más fármacos no relacionados fueron consideradas como multidrogoresistentes (MDR). Se identificó una alta resistencia a Cefalotina (74%), Oxitetraciclina (70%), Trimetoprima/sulfametoxazol (56%), Cloranfenicol (50%), Doxiciclina (34%) y Ciprofloxacino (32%). Las menores resistencias se observaron para Gentamicina (22%) y Amoxicilina+Ac. Clavulánico (7%). El estado de multirresistencia observado en *E. coli* aislados de granjas en Lima nos permite conocer la variedad de genes de resistencia que puedan coexistir en dichas granjas y con el potencial de ser diseminados entre bacterias intestinales.

Financing: Este proyecto fue financiado por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica-FONDECYT (CONCYTEC, Perú), a través del contrato N° 127-2018-FONDECYT.

Elementos genéticos movilizando blaKPC en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* de cinco hospitales de Cundinamarca, Colombia

Zayda Lorena Corredor Rozo¹, Deisy Julieth Abril Riaño¹, Leidy Johana Madroño¹, Ricaurte Alejandro Marquez Ortiz¹, Javier Antonio Escobar Perez¹, Aura Lucia Leal Castro², Julio Cesar Garcia³, Juan Sebastián Bravo Ojeda², Rosa Helena Bustos³, Carlos Humberto Saavedra Trujillo⁴

(1) Universidad El Bosque, Laboratorio de Genética Molecular Bacteriana, Bogotá D. C., Colombia

(2) Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina y Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Bogotá D. C., Colombia

(3) Universidad de la Sabana, Grupo Terapéutico Basado en Evidencia, Farmacología Clínica, Chía, Colombia

(4) Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Posgrado de Infectología, Bogotá D. C., Colombia

La circulación hospitalaria de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, albergando el gen blaKPC, incrementa no sólo la morbilidad y mortalidad de los pacientes infectados sino la probabilidad de diseminación del mecanismo de resistencia en la institución. El objetivo de este estudio fue caracterizar las plataformas de movilización de blaKPC que circularon en los aislamientos de *P. aeruginosa* de cinco hospitales de Cundinamarca. Metodología: Este estudio fue descriptivo de corte transversal en el que se analizaron 41 aislamientos de *P. aeruginosa* (portadores de blaKPC) recuperados entre los años 2017 y 2020. En los que se realizó confirmación molecular de especie, del gen blaKPC y su posible cocirculación con los genes blaGES, blaVIM, blaNDM y blaIMP. Se estudió la relación genética mediante PFGE y MLST (en cuatro instituciones), se secuenció el genoma completo de cuatro aislamientos representativos y se realizó la determinación in silico de los elementos genéticos móviles asociados a blaKPC que posteriormente fueron caracterizados en todos los aislamientos. Resultados: De los 41 aislamientos con blaKPC analizados, el 48,8% (20) albergaba también al gen blaVIM, lo que pudo generar mayores dificultades en el tratamiento. Respecto a la relación genética de los aislamientos, se evidenció en las instituciones una circulación policlonal asociada a por lo menos ocho clones de los cuales se seleccionaron cuatro aislamientos de distintas instituciones para el análisis genómico: 30Pae2 (ST111), 34Pae8 (ST235), 34Pae23 (ST235) y 34Pae36 (ST111). En los aislamientos ST111 se evidenció que el Tn4401b albergaba a blaKPC-3 (por primera vez reportado en la especie) dentro del plásmido p30Pae2-KPC-3 de 55.696 pb en 30Pae2; plásmido que se encontró inmerso en su totalidad dentro del cromosoma de 34Pae36, flanqueado por ISPa38. Por el contrario, en los dos aislamientos ST235 se evidenció a blaKPC-2 en un NTEKPC-Ilf (un nuevo NTEKPC) dentro del plásmido p34Pae23-KPC-2 de 23.000 pb. Teniendo en cuenta la circulación de estos plásmidos en las instituciones, se encontró que el p30Pae2-KPC-3 con el Tn4401b circuló en 11 (26,8%) aislamientos de dos instituciones y el p34Pae23-KPC-2 con el NTEKPC-Ilf en 16 (39,0%) aislamientos de tres instituciones. Conclusiones: La circulación de múltiples plataformas de movilización de blaKPC en los clones de *P. aeruginosa* ST111 y ST235 podría favorecer por diferentes vías la movilización horizontal de este mecanismo de resistencia (proveniente de *Klebsiella pneumoniae*) a otros clones y especies bacterianas; por lo que conocer la epidemiología local es de suma importancia para generar estrategias de prevención y control de infecciones acertadas.

Financing: Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación of Colombia-MinCiencias (Grant number 1308-77758007)

Identification of non-coding RNAs responding to Copper in *Enterococcus faecalis*

Jorge Torres¹, Sebastián Gómez¹, Víctor Aliaga¹, Mauricio Latorre^{1,2}

(1) Universidad de O'Higgins, Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 611, Rancagua, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, El Líbano 5524, Santiago, Chile

Copper is a micronutrient and potential antimicrobial agent. Upon exposure to Cu, in *Enterococcus faecalis* there is a significant response directed by the *cop* operon and a major change in the transcriptional response independent of CopY and other transcription factors, suggesting the presence of additional factors. Non-coding RNAs (ncRNAs) correspond to a family of small RNAs that do not encode proteins, and to date about 230 have been predicted in *E. faecalis*, most of them characterized in their effect on the general stress response. Therefore, the present work is aimed at identifying ncRNAs induced in response to Cu. In the first instance, using a selection of 585 possible ncRNAs encoded in *E. faecalis*, 1804 potential target genes were identified using *intaRNA* software. Subsequently, the target genes were classified by three aspects: response to Cu, Cu homeostasis and oxidative stress, obtaining a final list of 10 ncRNA (two *cis* and six *trans*) and 10 possible regulatory transcriptional targets. Then, growth of the *E. faecalis* OG1RF strain was performed under Cu excess (0.5 mM CuSO₄) and deficit (0.5 mM bathocuproine) to extract RNA and quantify by qPCR the abundances of ncRNA and their candidate targets. It was observed that eight ncRNA change their expression under a deficit or excess of Cu. In particular, the overexpression of ncRNA_6450 and ncRNA_2522, which are possibly controlling the genes EF0076 (oxidoreductase) and EF1367 (cold-shock protein), respectively. On the other hand, two ncRNA decreased their expression in a condition of deficit versus excess of Cu. Highlighting the ncRNA_2305 targeting the gene EF1053 (ABC transporter), whose expression decreased 3,941-fold versus control. For the first time, these results show complementary transcriptional regulatory mechanisms that will allow further understanding of Cu homeostasis in *E. faecalis*.

Financing: Center for Mathematical Modeling, Grant/Award Number: AFB170001; FONDECYT N° 1190742; Center for Genome Regulation FONDAP 15090007; CUECH; Gobierno Regional Chile.

Eficacia in vitro de fosfomicina y colistina en aislados clínicos de *Escherichia coli* uropatógenas MDR

Haziel Dzib-Baak^{1,3}, Andrés Uc-Cachón¹, Ángel Dzul-Beh¹, Rey Rosado-Manzano², Gloria Molina-Salinas¹

(1) Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad de Investigación Médica Yucatán, Unidad Médica de Alta Especialidad, Calle 34 No. 439 x 41, Colonia Industrial, Mérida, México

(2) Instituto Mexicano del Seguro Social, Laboratorio de Patología Clínica, Unidad Médica de Alta Especialidad, Calle 34 No. 439 x 41, Colonia Industrial, Mérida, México

(3) Universidad Autónoma de Yucatán, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Carretera Mérida-Xmatkuil Km. 15.5, Mérida, México

Escherichia coli es principal agente causal de infecciones del tracto urinario. A nivel mundial se estiman 150 millones de casos al año. El panorama epidemiológico se agrava por las cepas de *E. coli* MDR (MultiDrugResistant, cepas resistentes al menos a un fármaco de 3 grupos químicos) y XDR (Extensively Drug Resistant, cepas resistentes a todos los grupos químicos, excepto a 1 o 2 grupos), que son consideradas un problema de salud pública por su alta morbimortalidad. El incremento de las tasas de resistencia bacteriana y el escaso desarrollo de nuevos fármacos, han conducido a reposicionar antimicrobianos en desuso. Dentro de los fármacos reutilizados se encuentran fosfomicina (FOS) y colistina (COL). El propósito de esta investigación fue identificar si FOS y COL exhibían actividad sobre aislados clínicos de *E. coli* uropatógenas (ECU) MDR. Métodos: La concentración mínima inhibitoria de FOS y COL se determinó para un total de 60 aislados clínicos ECU MDR (resistentes a 4-8 grupos de antimicrobianos) obtenidos de muestras urinarias de pacientes. Se utilizó el ensayo de microdilución en caldo con resazurina (REMA), considerando los puntos de corte establecidos por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) para determinar la sensibilidad o resistencia. Resultados: El 91.66% (55/60) y 96.66% (58/60) de las ECU MDR fueron sensibles a FOS y COL, respectivamente. Con los ahora 11 grupos de antimicrobianos evaluados (9 en el laboratorio clínico más FOS y COL), el 5% (3/60) de las ECU MDR se categorizaron como XDR. Las tres ECU XDR fueron resistentes a FOS y una de ellas resistente a FOS y COL. Conclusión: Nuestros resultados indican que FOS y COL podrían representar una alternativa terapéutica para las infecciones urinarias causadas por *E. coli* MDR. Adicionalmente, la identificación de cepas ECU XDR es alarmante.

Identificación de dos nuevas secuencias de inserción (ISPrr10 e IS6368) que movilizan el gen blaNDM-1 en *Providencia rettgeri*.

Javier Escobar-Pérez¹, Lorena Cortés-Villamil¹, Deisy Abril¹, Johana Madroñero¹, Ricaurte Alejandro Márquez-Ortiz¹, Ulises Garza-Ramos², Jesús Silva-Sánchez², Natasha Vanegas³

(1) Universidad El Bosque, Laboratorio de Genética Molecular Bacteriana, Colombia

(2) Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), CISEI, Cuernavaca, Morelos, México, México

(3) University of Technology Sydney, The itthree Institute, Australia

Providencia rettgeri es una bacteria Gram negativa ambiental, pero puede habitar el tracto gastrointestinal humano y generar algunas infecciones, principalmente de vías urinarias. En los últimos años ha aumentado el número de infecciones por esta bacteria y se ha complicado su tratamiento por la adquisición de diferentes mecanismos de resistencia. Recientemente, se ha propuesto que *Providencia rettgeri* puede servir de reservorio para la diseminación de la metalo- β -lactamasa NDM desde especies de *Acinetobacter* spp. hacia Enterobacterias de alto impacto clínico. El objetivo de este estudio fue identificar los elementos genéticos móviles (EGMs) asociados con la movilización del gen blaNDM-1 en una cohorte de aislamientos de *Providencia rettgeri*. Se realizó el análisis genómico y molecular de 19 aislamientos de *P. rettgeri* aislados en un hospital en México. La relación filogenética fue establecida mediante PFGE y la variabilidad del transposón Tn125, que moviliza el gen blaNDM-1, fue determinada por PCR. Se secuenció el genoma de seis aislamientos representativos de los clones encontrados y se identificaron y analizaron los EGMs por medio de genómica comparativa. Los ensayos de PFGE mostraron la circulación de siete clones, los cuales presentaron diferentes estructuras del transposón Tn125. La secuenciación genómica permitió identificar tres plásmidos nuevos y dos nuevas secuencias de inserción, denominadas como ISPrr10, relacionada con la familia IS91, y la IS6368 (ISFinder). Los análisis comparativos de huellas de transposición sugieren que estas IS son activas y que están involucradas en la movilización del gen blaNDM entre los diferentes plásmidos a través de la formación de unidades traslocativas (TU). En conclusión, se identificaron dos nuevos mecanismos de movilización del gen blaNDM-1, en *P. rettgeri*, bacteria que puede ser un modelo de estudio para el análisis de movilización de fragmentos de DNA.

Financing: Universidad El Bosque Proyecto PCI-2019-10891. Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, México.

Detection of metal tolerance genes in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates from water sources in Brazil

Rafael Da Silva Rosa¹, João Pedro Rueda Furlan¹, Micaela Santana Ramos¹, Eduardo Angelino Savazzi², Eliana Guedes Stehling¹

(1) Universidade de São Paulo, Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Avenida do Café, s/n, Ribeirão Preto, Brazil

(2) Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, Av. Presidente Kennedy, 1760, Ribeirão Preto, Brazil

Escherichia coli is an important pathogen associated with intestinal and extra-intestinal infections and is increasingly related to the multidrug resistance phenotype. In aquatic environments, count of *E. coli* is an important indicator of contamination, whose main source is domestic sewage. The environment has been described as a reservoir of multidrug-resistant (MDR) bacteria, including *E. coli*, and antimicrobial resistance genes. In addition, the presence of metals in water sources favors the selection of MDR bacteria since antimicrobial resistance genes and metal tolerance genes have been frequently reported in the same mobile genetic elements. Therefore, this study aimed to search metal tolerance genes in MDR *E. coli* isolates recovered from different aquatic environments (i.e., rivers, streams and lakes) in Brazil. A total of 50 MDR *E. coli* isolates that exhibited resistance to Beta-lactams, polymyxins, fluoroquinolones, tetracyclines, aminoglycosides, sulfonamides, and phenicols, and harbored several antimicrobial resistance genes, as well as mutations in determinants of antimicrobial resistance, were included in this study. Metal tolerance genes were screened by conventional PCR. MDR *E. coli* isolates carried different metal tolerance genes, such as *pcoA*, *merA*, *silA*, *arsB*, and *rncA*. These genes are associated with tolerance to copper, mercury, silver, arsenic, cobalt and nickel, and have been commonly reported in multidrug resistance plasmids. Furthermore, the co-occurrence of Beta-lactamase-encoding genes and metal tolerance genes were detected in the great majority of the MDR *E. coli* isolates. Therefore, these results call attention to the dissemination of MDR *E. coli* in water sources, as well as the co-occurrence of antimicrobial resistance genes and metal tolerance genes in these isolates.

Financing: This study was supported by FAPESP [grant no. 2018/19539-0 and 2018/01890-3], CNPq [grant no. 130086/2021-5] and CAPES [grant no. 88882.180855/2018-01, 88887.519091/2020-00 and Finance code 001] .

A fusion plasmid harboring blaCTXM-15 and qnrB2 isolated from a clinical Escherichia coli: the multiresistant outcome of multiple complex genomic rearrangements between two conjugative plasmids.

Florencia Martino¹, Nathalie Tijet², Tomás Poklégovich³, Josefina Campos³, Alejandra Corso¹, Roberto Melano², Alejandro Petroni¹

(1) Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Departamento de Bacteriología, Servicio Antimicrobianos, Av. Velez Sarsfield 563, Buenos Aires, Argentina

(2) Public Health Ontario Laboratory, 661 University Avenue, Suite 1701, Toronto, Canada

(3) Plataforma de Genómica y Bioinformática, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Av. Velez Sarsfield 563, Buenos Aires, Argentina

Mobile genetic elements, which are able to move within or between DNA molecules, play a central role in the acquisition and dissemination of resistance genes. IS26 is the insertion sequence (IS) most commonly associated to resistance genes in Gram-negative bacteria. Here, we describe a plasmid harboring blaCTXM-15 and qnrB2, which seems to be a product of multiple complex genomic rearrangements driven mainly by IS26 and homologous recombination. Methods *Escherichia coli* M9902 was isolated from abdominal infection of a hospitalized patient in Buenos Aires City (Argentina, 2008). Biparental conjugation was performed using *E. coli* J53, as recipient. Plasmid profile was assessed by S1 nuclease. Whole genome sequencing (WGS) was performed by Illumina (MiSeq) and Oxford Nanopore Technologies (MinION). MiSeq and MinION DNA reads were used for hybrid assembly with Unicycler. Sequences were annotated with PROKKA and manually curated. PlasmidFinder, ResFinder, ISFinder and OriTfinder were used to identify incompatibility groups (Inc), resistance genes, insertion sequences and conjugative regions, respectively. Sequence comparisons were performed with BLAST, using the NCBI Nucleotide Collection Database (NCBI-DB), and Artemis Comparative Tool. Results S1 nuclease showed that *E. coli* M9902 harbored 2 plasmids of about 357 and 119 kb. This latter was transferred to *E. coli* J53 Az-R, rendering transconjugant TC-M9979. By WGS of TC-M9979 and hybrid assembly we identified one circular contig of 127,921 bp, named pEcoM9902_127. NCBI-DB comparisons revealed that a portion of its sequence was fully contained in pUY_STM62 (62,060 bp, IncN) from a *Salmonella enterica*, serovar. Typhimurium of Uruguay while the remaining portion was fully covered by pC15-1a (92,353 bp, IncFII) from an *E. coli* of Canada (99% identity in both cases). The core regions of pUY_STM62 and pC15-1a were contained in pEcoM9902_127, and then, pEcoM9902_127 contained two sets of replication, stability and conjugation genes. Both pUY_STM62 and pC15-1a contained the tetR/tetA array and the portions of these plasmids in pEcoM9902_127 were flanked by two copies of this array, suggesting that pEcoM9902_127 could have been originated from the fusion of pUY_STM62 and pC15-1a through homologous recombination at the tetR/tetA array region. However, an IS26-flanked, 10-kb fragment of pUY_STM62 was not present in pEcoM9902_127. In addition, several fragments of pC15-1a showed inverted orientation, were flanked by IS26, or were absent in pEcoM9902_127, indicating that several complex genomic rearrangements mostly driven by IS26 were also involved in pEcoM9979_127 makeup. Indeed, ISFinder showed that the 13% of the pEcoM9979_127 sequence contained several insertion sequences among which 7 IS26 copies were found. Besides tet(A), pUY_STM62 provided pEcoM9902_127 with qnrB2 and dfrA25, both located in a complex class 1 integron: $\Delta 5'CS/dfrA25/3'CS/sapA/orf/qnrB2/\Delta pspF/3'CS2/orf5/orf6/$, while pC15-1a provided with additional resistance genes: blaCTXM-15, blaOXA-1 and aac(6)-Ib-cr. Conclusions Our findings suggest that pEcoM9902_127 is a conjugative fusion plasmid, product of a homologous recombination between pUY_STM62 and pC15-1a plus multiple complex genomic rearrangements mainly driven by IS26. The high number of IS26 copies in pEcoM9902_127 confers great potential for further genomic rearrangements that contribute to the dissemination of antimicrobial resistance and multiresistance.

Enterobacterias resistentes a quinolonas en muestras fecales de lactantes

Arturo Gonzales Rodriguez¹, Javier Castillo Horna¹, Edgar Gonzales Escalante²

(1) Universidad de Piura, Medicina Humana, Calle Mártir José Olaya 162, Miraflores., Lima, Perú

(2) Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Calle Junín 954, Buenos Aires, Argentina

La resistencia a los antimicrobianos constituye un problema serio de salud pública en el mundo, el cual se ha agudizado durante los últimos años, lo que representa un constante desafío terapéutico. El tracto digestivo humano ofrece el ambiente adecuado a ser colonizado por enterobacterias resistentes a los antimicrobianos. Cuando las bacterias del contenido fecal invaden tejidos o cavidades estériles pueden diseminarse por todo el organismo provocando diversas infecciones. En los últimos años se ha observado un aumento en el uso de fluoroquinolonas en los niños, que podría posibilitar el incremento de infecciones por gérmenes resistentes. Los genes *qnr* y *aac(6)-Ib-cr*, determinantes transferibles de resistencia a quinolonas está relacionada con las betalactamasas de espectro extendido (BLEE). El objetivo del estudio fue evaluar la presencia de determinantes de resistencia a quinolonas en enterobacterias recuperadas de lactantes en la ciudad de Talara, Perú. Método. -Se estudiaron muestras fecales de 40 lactantes (3 a 12 meses) obtenidos en la ciudad de Talara, Perú, entre septiembre y diciembre de 2019. Se seleccionaron Enterobacterias resistentes a fluoroquinolonas en agar Mac-Conkey suplementado con ciprofloxacina (2µg/ml). La identificación y el perfil de susceptibilidad se realizó con el sistema automatizado VITEK 2 COMPACT, y la detección de genes de resistencia mediante PCR según protocolos estandarizados. Resultados. - De cada placa individual se aisló una colonia, rindiendo 29/40 enterobacterias con capacidad de crecimiento sobre el medio suplementado con ciprofloxacina. Las enterobacterias recuperadas fueron: *Escherichia coli* (24/29), *C. freundii* (2/29), *Enterobacter cloacae* (1/40), *Klebsiella pneumoniae* (1/40) y *Hafnia paralvei* (1/40). La resistencia a ciprofloxacina se identificó en 17/29 aislados. En el grupo de los aminoglucósidos se encontró resistencia en 8/29 para gentamicina y ningún aislado resistente a amikacina. La resistencia al trimetoprima-sulfametoxazol fue alta en todos los aislamientos, 18/29. Además, se detectó resistencia a ceftriaxona en 15/29, precisamente en los productores de BLEE. El análisis molecular mostró que los genes *qnr* y *aac(6)-Ib-cr* estuvieron presentes en 8/29 y 6/29 aislados, respectivamente. En relación a los genes de BLEE, el gen *blaCTX-M* estuvo presente en 14/15 (*blaCTX-M* -grupo 1 : 12/14; *blaCTX-M* -grupo 2 : 4/14 y *blaCTX-M* -grupo 9: 4/14). El gen *blaPER-2* no fue detectado. Conclusiones. -Se observó la presencia de colonización con bacterias resistentes a quinolonas en lactantes sin exposición previa a los antimicrobianos. Además, de presentar resistencia acompañante a otras familias de antimicrobianos como betalactámicos, debido a la presencia de BLEE. Las infecciones causadas por bacterias multidrogoresistente (MDR) representan un reto para el equipo de salud por la limitada disponibilidad de opciones de tratamiento, esto obliga a la prevención de estas infecciones mediante la restricción del uso de agentes antimicrobianos, junto con la aplicación de medidas inmediatas de control de infecciones.

Financing: Este estudio fue financiado por la Facultad de Medicina de la Universidad de Piura.

Susceptibilidad a fosfomicina en aislamientos de E.coli recuperados de urocultivos en Uruguay entre diciembre de 2018 y agosto de 2019

Pablo Avila¹, María José Acevedo¹, Agustín Inchausti¹, Nicolás Cordeiro¹, Virginia García-Fulgueiras¹, Rafael Vignoli¹

(1) Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, UdelaR, Dr. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son un gran problema de salud pública. Por un lado porque constituyen la segunda infección más frecuente en el ámbito de la asistencia primaria en salud y por otro, por el aumento de la resistencia a los antibióticos de primera línea (quinolonas, oximinocefalosporinas y trimetoprim-sulfametoxazol) en su principal agente etiológico *Escherichia coli* uropatógena. En este contexto la fosfomicina ha resurgido como opción para el tratamiento de las ITUs. En nuestro país hemos reportado la presencia de *E. coli* patógeno extraintestinal (ExPEC) portando *fosA3* asociado a las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) CTX-M-14 y CTX-M-55 en aislamientos obtenidos de humanos y animales, respectivamente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad a fosfomicina en aislamientos de *E. coli* recuperados de urocultivos provenientes de diferentes centros hospitalarios tanto públicos como privados del país y caracterizar las BLEE acompañantes. Metodología: Se estudiaron un total de 1157 cepas de *E. coli* provenientes de urocultivos significativos de centros de salud pública y privada de 17 departamentos del país, de pacientes que consultaron con sintomatología del tracto urinario (diciembre/2018-agosto/2019). La susceptibilidad a fosfomicina se evaluó mediante antibiograma por disco difusión. La detección de BLEE y genes *fosA3* se determinó mediante PCR y secuenciación. A los aislamientos resistentes a fosfomicina se realizó búsqueda de clones exitosos (ST73, 69, 131 y 95) mediante PCR-múltiple. Resultados: De los 1157 aislamientos estudiados, 80 presentaron test fenotípico de BLEE (6.9%). La resistencia a fosfomicina se observó en 23 aislamientos (2.0%), en 9 productoras de BLEE (11.2%) y en 14 no productoras (1.3%). Encontramos una diferencia significativa entre la sensibilidad a fosfomicina en cepas productoras de BLEE y las no productoras ($p < .00001$). En 9 aislamientos se detectó *fosA3* (39,1%). Los genes codificantes de BLEE detectados fueron: 4 blaCTX-M-14 (con *fosA3* en 2 casos), 2 blaCTX-M-15 (con *fosA3*), 2 blaCTX-M-55 (con *fosA3*) y 1 blaCTX-M-65. De los 23 aislamientos, 5 fueron de algún secuenciotipo exitoso (1 de ST73, 2 de ST69 y 2 de ST131). Solamente los aislamientos correspondientes a ST131 presentaron *fosA3* y fueron los únicos que presentaron BLEE (CTX-M-55 y CTX-M-14). Conclusiones: La resistencia a fosfomicina es un hecho poco frecuente a nivel global, pero esto cambia cuando el microorganismo es productor de BLEE, ya que en estos casos dicha resistencia puede significar el 10%. La presencia de *fosA3* asociado a diferentes BLEE genera un problema adicional de co-resistencia, en el que el uso indiscriminado de fosfomicina, puede generar la selección de microorganismos resistentes a oximinocefalosporinas entre otros antibióticos. Dado que la fosfomicina es uno de los principales recursos terapéuticos disponibles para el tratamiento de las ITU, resulta imprescindible la vigilancia epidemiológica de los mecanismos de resistencia involucrados, en vistas a optimizar su uso a nivel clínico y reducir la presión de selección antibiótica.

Financing: Este trabajo se desprende del Proyecto de Investigación Aplicada Fondo María Viñas – 2017. Título: Resistencia transferible a polimixinas: estado de emergencia. Financiado por Proyecto de Investigación Aplicada Fondo María Viñas, ANII

Caracterización genómica de *E. coli* y *Klebsiella* multidrogorresistentes en aguas residuales y muestras clínicas de un hospital pediátrico en Lima, Perú

Camila Castillo-Vilcahuamán¹, Brenda Ayzanoa¹, Janet Huancachoque¹, Guillermo Salvatierra¹, Alejandra Dávila-Barclay¹, Maritza Calderón¹, Carlos Santillán², Pablo Tsukayama^{1,3}

(1) Laboratorio de Genómica Microbiana, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

(2) Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja, Lima, Perú

(3) Wellcome Sanger Institute, Hinxton, Reino Unido

La resistencia antimicrobiana es uno de los principales problemas de salud pública global. Las aguas residuales de ambientes hospitalarios tienen el potencial de contribuir a la diseminación de patógenos resistentes y genes que confieren resistencia antibiótica. Las enterobacterias (entre ellas, *E. coli* y *Klebsiella* sp.) son las principales especies capaces de producir enzimas que hidrolizan antibióticos como las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), AmpC y carbapenemasas. El objetivo del estudio fue caracterizar la resistencia antimicrobiana y diversidad genómica de aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp. provenientes de aguas residuales y muestras clínicas en un hospital pediátrico en Lima, Perú. Los aislados de *E. coli* y *Klebsiella* sp. identificaron mediante agar selectivos y pruebas bioquímicas. La susceptibilidad antibiótica se determinó por discos de difusión. Se secuenció el genoma completo de todos los aislados mediante el uso de un equipo MiSeq de Illumina. Se usó el pipeline SPADES y ResFinder a través de la plataforma web Galaxy para el ensamblaje de novo y la identificación de genes de resistencia. En total, se identificaron 168 aislados entre *E. coli* y *Klebsiella* sp., siendo 115 y 53 provenientes de aguas residuales y muestras clínicas, respectivamente. La frecuencia de fenotipo BLEE fue mayor en aislados clínicos comparado con aguas residuales (56.6% vs. 16.5%). Sin embargo, solo los aislados de aguas residuales mostraron producción de betalactamasas AmpC (3.5%) y carbapenemasas (7.8%). Se identificaron 50 secuenciotipos (STs) en *E. coli*, 19 STs en *Klebsiella* sp. y genes de resistencia para betalactámicos (blaTEM, blaCTX-M), blaTEM-1, blaCTX-M-15 y blaCTX-M-14. ST-131, ST-101, ST-117, ST-410 y ST-69 fueron identificados en *E. coli* de ambas fuentes de origen. Nuestros resultados evidencian altos niveles de resistencia en aislados de *E. coli* y *Klebsiella* sp. provenientes de aguas residuales y muestras clínicas en un hospital pediátrico. La alta frecuencia de aislados MDR en aguas residuales podría estar determinada por el uso de antibióticos en el ambiente hospitalario. Sin embargo, se requieren más estudios para entender el rol de los sistemas de aguas residuales en la diseminación de la resistencia antimicrobiana en la comunidad.

Financing: Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT) y Banco Mundial, contrato 088-2018.Fondo a la Investigación 2018 del Instituto Nacional del Salud del Niño, San Borja.

Beta-lactamic resistance markers in cattle fecal samples

Thamiris Naiasha Minari Ramos¹, Ana Carolina Borsanelli², Julia Rebecca Saraiva¹, Juliana Vaccari¹, Natália Cristina de Souza¹, Robson Varlei Ranieri³, Elerson Gaetti-Jardim Júnior³, Iveraldo Santos Dutra⁴

(1) Universidade Estadual Paulista - UNESP, Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal - SP, Brasil

(2) Universidade Federal de Goiás - UFG, Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária e Zootecnia, Rodovia Goiânia - Nova Veneza, km 8, Campus Samambaia, CEP 74001-970, Goiânia - GO, Brasil

(3) Universidade Estadual Paulista - UNESP, Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Rua José Bonifácio 1193, CEP 16015-050, Araçatuba - SP, Brasil

(4) Universidade Estadual Paulista - UNESP, Departamento de Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Rua Clóvis Pestana, 793, CEP 16050-680, Araçatuba - SP, Brasil

Antibiotic resistance is a serious public health issue, responsible for economic losses and thousands of human and animal lives. The beta-lactam class is widely used in cattle farming, but its large-scale use has led to the selection of resistance genes in several microbial species and strains. Thus, the present study aimed to detect the presence of resistance genes to these antimicrobials in fecal samples from cattle kept under different management systems. Two properties of beef cattle (BC1 and BC2), two of dairy cattle (DC1 and DC2) and a confinement (C) were selected. The frequency and intensity of the use of antimicrobials were evaluated through a questionnaire applied to farmers and technicians in charge. Forty-five fecal samples were collected (15 samples, beef cattle; 20, dairy cattle; 10 samples of confined cattle). Fecal content was obtained after cleaning the animal's perianal region, with a sterile glove, directly from the rectal ampoule and stored at -80°C until DNA extraction. The presence of ampC, blaSHV, blaCTX-M and blaTEM genes was evaluated by amplification of target DNA by polymerase chain reaction (PCR), with specific primers and amplification conditions for each marker. The results were submitted to Student's t test and the significance level was $p < 0.05$. In the analysis of the questionnaire, only the confinement and the BC1 property did not use beta-lactams. As for the distribution of the studied markers, blaCTX-M was not detected, whereas the occurrence of ampC, blaSHV, and blaTEM in beef cattle was 66.7%, 40% and 93.3%, respectively; in dairy cattle, these markers were observed in 50%, 70% and 55% of the samples, the same occurring with 60%, 50% and 30% of the samples of confined cattle. The presence of the blaTEM gene was significantly higher in beef cattle. The present study demonstrated the high frequency of detection of genes linked to resistance to beta-lactam drugs in all different types of management in cattle raising, reinforcing the need to adapt the use of these drugs as a strategy to minimize the spread of these markers.

Financing: CNPq (Processo 142139/2018-1).

Campylobacter jejuni y otras campylobacterias emergentes en hígado vacuno, ¿una potencial vía de transmisión subestimada?

Monica López¹, Carmen Lopez-Joven², Luis Collado¹

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Valdivia, Chile

(2) Universidad Austral de Chile, Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile

La familia Campylobacteraceae comprende varias especies zoonóticas, de las cuales *Campylobacter jejuni* destaca como un importante agente de gastroenteritis. La infección es autolimitada; sin embargo, en pacientes con factores de riesgo se pueden presentar cuadros severos y enfermedades sistémicas. Su principal vía de transmisión es el consumo de carne de pollo y de vacuno. Sin embargo, subproductos de estos animales, como menudencias o vísceras, han sido poco estudiados. En este contexto, algunos estudios con hígado de pollo, han indicado una alta prevalencia de *C. jejuni*. Existiendo poca información en hígado vacuno. Además, los estudios realizados generalmente no consideran otras campylobacterias emergentes que conviven en el mismo reservorio. Por otra parte, se ha dado un creciente reporte de resistencia frente a los antimicrobianos empleados para tratar la campylobacteriosis. Por lo tanto, nuestro objetivo fue evaluar la presencia de *C. jejuni* y otras campylobacterias en hígado vacuno, así como caracterizar su resistencia antibiótica y su potencial relación genética con cepas clínicas aisladas anteriormente en nuestro laboratorio. Se analizaron 206 muestras de hígado vacuno comprados en supermercados y carnicerías en Valdivia (sur de Chile) entre junio 2020 y marzo 2021. Las muestras se procesaron de acuerdo a la norma ISO 10272:2017. Los aislamientos fueron identificados mediante PCR múltiple y análisis filogenético del gen *cpn60*. A su vez, se evaluó la susceptibilidad a ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina y tetraciclina mediante métodos fenotípicos. Posteriormente, se analizó la presencia de genes de resistencia (*tet* y *cmeABC*) y mutaciones del gen *gyrA*. Además, las cepas de *C. jejuni* fueron genotipificadas por *flaA*-RFLP y MLST. Un 37% de las muestras resultaron positivas para el aislamiento de campylobacterias. La especie más prevalente fue *Arcobacter butzleri* (59,2%), seguida por *C. jejuni* (26,3%) y *C. fetus* (21%) y, por último, *C. coli* (2,6%). Este estudio correspondería al primer reporte de *A. butzleri* en hígado bovino. Además, hasta donde sabemos, no se había reportado un alimento de origen animal donde *C. fetus* fuese tan prevalente. Por otra parte, el 17,2% y 6,9% de las cepas de *C. jejuni* fueron resistente a tetraciclina y ciprofloxacino, respectivamente, todas ellas, portadoras del gen *tetO* y la mutación C257T en *gyrA*, además de la bomba de expulsión *cmeABC*. Adicionalmente, *C. fetus* presentó resistencia frente a ciprofloxacino (8,3%). Todas las especies fueron sensibles a gentamicina y eritromicina. La resistencia observada fue dirigida principalmente a quinolonas y tetraciclinas, correlacionándose con el uso de este tipo de antibióticos en la producción bovina. Complementariamente, las cepas de *C. jejuni* fueron genotipificadas debido a la importancia clínica de esta especie. Los genotipos se agruparon en los complejos clónales CC-21, 42, 48, 52, y 354, cuatro de estos coincidiendo con genotipos de cepas clínicas reportadas en Chile. En conclusión, nuestros resultados evidencian que el hígado bovino es reservorio de diversas campylobacterias. Además, se demostró concordancia entre algunos genotipos de cepas clínicas de *C. jejuni* y los aislamientos de hígado vacuno. Por lo tanto, estudios futuros deberían evaluar este alimento como una potencial vía de transmisión de campylobacterias.

Financing: Proyecto Fondecyt regular 1200125

Análisis de la resistencia a rifaximina en *Escherichia coli* Adherente-Invasiva (AIEC) depositadas en el GenBank

Carolina Acevedo Ocampo¹, Hania Anai Alcalá Martínez¹, Carlos Aarón de la Torre Perdomo¹, María Guadalupe Balbuena-Alonso², Patricia Lozano-Zarain², Gerardo Cortés-Cortés³, Rosa del Carmen Rocha-Gracia²

(1) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Licenciatura en Biomedicina, Facultad de Medicina, Calle 13 Sur #2702 Colonia Los Volcanes CP. 72420, Puebla, México

(2) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Posgrado en Microbiología, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Edificio IC-11, Ciudad Universitaria Colonia Jardines de San Manuel CP. 72570, Puebla, México

(3) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Postdoctoral Conacyt, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Edificio IC-11, Ciudad Universitaria Colonia Jardines de San Manuel CP. 72570, Puebla, México

La rifaximina es un antibiótico oral no sistémico derivado de la rifampicina y que se caracteriza por un amplio espectro de actividad frente a bacterias grampositivas y negativas, aeróbicas y anaeróbicas. Debido a que presenta una absorción escasa (< al 1%), es un antibiótico de elección para tratar a ciertos microorganismos como *Escherichia coli* Adherente/Invasiva (AIEC), asociados a la Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Sin embargo, AIEC puede presentar resistencia a este antibiótico por mecanismos poco explorados en la literatura y permanecer por mucho tiempo interaccionando con la mucosa intestinal, favoreciendo la EII. **Objetivo:** Es por ello que en el presente trabajo se estudió la presencia de mutaciones en el gen *rpoB* que codifica para la subunidad β de la RNA polimerasa, así como en la bomba de expulsión AcrAB-TolC inhibible por PAbN (Phe-Arg-b-Naphthylamide) y en sus reguladores MarA, MarR y AcrR, que se ha documentado están involucradas con la resistencia a rifaximina en AIEC. **Métodos:** Para realizar la búsqueda de los genes y las mutaciones presentes en 30 genomas de AIEC depositados en el GenBank, se utilizó la base de datos CARD y las herramientas bioinformáticas BLAST, ExPasy, Clustal Omega y ResFinder v4.1. **Resultados:** Se detectaron tres mutaciones G329D, N518D y A1263E en el gen *rpoB* de las cepas HM605, T75 y LF82, respectivamente. Sin embargo, las mutaciones en las posiciones 329 y 1263 no se han asociado con la resistencia a rifaximina en otros modelos bacterianos, incluidos AIEC. Respecto a las mutaciones en la bomba AcrAB-TolC, veintinueve genomas (96.6%), presentaron las mutaciones Y137H y G103S en el represor MarR, mientras que la mutación S3N se detectó en el 36.6% de los genomas. Por otro lado, sólo una cepa presentó mutaciones en el represor del complejo AcrAB-TolC, AcrR (T213I y N214T); sin embargo, estas mutaciones no se encuentran relacionadas con la resistencia a rifaximina, ya que la variante asociada a la misma es R45C. **Conclusión:** Todos los genomas analizados presentaron el complejo de bombas de expulsión con mutaciones en el represor MarR asociadas a la resistencia a rifaximina, lo que pone en evidencia su participación en la resistencia a este antibiótico. Estos hallazgos resaltan la necesidad de implementar este análisis in vitro en cepas AIEC, lo que permitirá establecer un monitoreo epidemiológico, para evaluar la resistencia a rifaximina en cepas AIEC asociadas a la Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

Financing: Proyecto CONACYT A1-S-22136 del fondo FOSEC SEP-Investigación Básica

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Annona muricata* L

Juan Rodríguez¹, María Andrea Olivero¹, Ana Gabriela Maldonado¹

(1) UNIVERSIDAD LIBRE SECCIONAL BARRANQUILLA, MEDICINA, CIENCIAS DE LA SALUD

Colombia es un país biodiverso en flora y fauna, donde las especies vegetales son de gran importancia porque a partir de estas se pueden generar medicamentos para el tratamiento de patologías y el desarrollo de materias primas en la producción de bienes y servicios. La utilización de medicamentos derivados de plantas se remonta a la antigüedad y es una costumbre que ha perdurado en el tiempo. Un ejemplo es *Annona muricata* L, popularmente conocida como "Guanábana". En la literatura existe evidencia de las diversas actividades biológicas que presentan los metabolitos secundarios de esta planta, entre ellos, gran cantidad de compuestos antimicrobianos. Lo anterior es de vital importancia, debido a que la resistencia a los antimicrobianos convencionales son una constante amenaza global. La búsqueda de nuevas moléculas de origen natural con menores efectos secundarios y con posibles diferentes rutas o mecanismos de acción que los antibióticos tradicionales brindan una herramienta para combatir estas problemáticas. Por lo anterior se propuso una búsqueda exhaustiva de los compuestos reportados en la literatura de *A. muricata*, y sus respectivas actividades biológicas haciendo énfasis en los compuestos con actividad antimicrobiana en las bases de datos científicas, reportes institucionales entre otros documentos verificables, en los últimos 5 años. Luego de esta búsqueda y depuración de la información encontramos que el 41 % de los compuestos reportados en las diferentes partes de la planta corresponden a acetogeninas, seguidos de flavonoides y alcaloides con un 17% y 15% respectivamente. Las hojas presentan la mayor concentración de metabolitos con el 50% de los compuestos reportados. A su vez, es la parte de la planta con la mayor cantidad de compuestos antimicrobianos. Adicionalmente, se encontraron nueve alcaloides, diez flavonoides, seis taninos, seis saponinas y solo cuatro terpenoides con actividad antimicrobiana considerable. Sin embargo, las acetogeninas fueron los compuestos con mayor relevancia respecto a su capacidad inhibitoria contra bacterias, tales como: *E. coli*, *Paeruginosa*, *L. monocytogenes*, *Salmonella Typhi* spp, *Streptococcus pyogenes* y *S. aureus*. Cabe destacar que también se reportan actividades biológicas tales como: insecticida, larvicida, antioxidantes, molusquicidas, antidiarreico, antiparasitario intestinal y antiinflamatorias. Incluyendo actividad citotóxica frente a cáncer de seno, pulmón y sistema nervioso central del extracto etanólico de las hojas de *A. muricata*. Con este trabajo concluimos que *A. muricata* es una fuente indiscutible de compuestos antimicrobianos. Por lo cual se sugiere iniciar proyectos de investigación con el fin de aislar, purificar y evaluar la seguridad y eficacia de estos compuestos promisorios.

Evaluación de la actividad antimicrobiana de un péptido catiónico, frente a bacterias multirresistentes

Sandra Rivera¹, Helen Agudelo¹, Jose Oñate¹, Liliana Florez⁴, Adriana Correa¹, Ivan Dario Ocampo Ibáñez¹, Paola Londoño², Alberto Aragon³, Dorian Polo³, Juan David Londoño³

(1) Universidad Santiago de Cali, Valle del Cauca, Ciencias Básicas, Cali 760035, Cali, Colombia

(2) Laboratorio de Salud pública departamental, Valle del Cauca, Ciencias Básicas, Cali 760035, Cali, Colombia

(3) Universidad del Valle, Química, Ciencias Naturales exactas, Cali 760001, Cali, Colombia

(4) Universidad ICESI, Departamento de Salud Pública, Escuela de Medicina, Cali 760032, Cali, Colombia

Sandra Patricia Rivera-Sánchez 1 , Helen Astrid Agudelo-Góngora 1 , José Oñate-Garzón 2 , Liliana Janeth Flórez-Elvira 3 , Adriana Correa 1 , Paola Andrea Londoño 4 , Juan David Londoño-Mosquera 5 , Alberto Aragón-Muriel 5 , Dorian Polo-Cerón 5 and Iván Darío Ocampo-Ibáñez 1 1 Grupo de investigación en Microbiología, Industrial y Ambiente (GIMIA) Facultad de Ciencias Basicas, Universidad Santiago de Cali, Cali 760035, Colombia; sandra.rivera04@usc.edu.co; helen.agudelo00@usc.edu.co ; adriana.correa00@usc.edu.co; ivan.ocampo00@usc.edu.co 2 Grupo de investigación en Química y Biotecnología (QUIBIO), Facultad de Ciencias Basicas, Universidad Santiago de Cali, Cali 760035, Colombia; jose.onate00@usc.edu.co 3 Departamento de Salud Pública, Escuela de Medicina, Universidad Icesi, Cali 760032, Colombia; liliana.florez1@correo.icesi.edu.co 4 Laboratorio de Salud Pública Departamental, Secretaria Departamental de Salud del Valle del Cauca, Gobernación del Valle del Cauca, Cali 760045, Colombia; palondono@valledelcauca.gov.co 5 Laboratorio de Investigación en Catálisis y Procesos (LICAP), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali 760001, Colombia; david.londono@correounivalle.edu.co; alberto.aragon@correounivalle.edu.co; dorian.polo@correounivalle.edu.co

RESUMEN:La resistencia a los antimicrobianos se produce cuando los microorganismos sufren cambios (mutaciones) haciendo que los medicamentos utilizados para el tratamiento de las infecciones pierdan eficacia, . Bacterias Gram negativas como *Klebsiella pneumoniae* multidrogo-resistentes (MDRKp) y *P. aeruginosa*, multidrogo-resistentes (MDRPa) son de importancia clínica, e impacto en salud pública, por ser causantes de muertes y de brotes . Por esta razón los péptidos antimicrobianos catiónicos(CAMP), bactericidas invitro y de amplio espectro antimicrobiano, pueden ser promisorios, candidatos terapéuticos, como nueva alternativa, para este tipo de bacterias multidrogo-resistentes (MDR), En este trabajo se evaluó la actividad antibacteriana de un péptido catiónico derivado de Cecropina D de *Galleria mellonella* frente a 15 aislados clínicos sensibles de *Klebsiella pneumoniae* y 15 de *Pseudomonas aeruginosa* sensibles y 30 (15 *P. aeruginosa* y 15 *K. pneumoniae*) aislados clínicos multirresistentes a diferentes categorías antimicrobianas, empleando el método de microdilución, según CLSI 2019, para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC). El diseño empleado fue experimental aleatorizado y el plan de análisis se realizó por medio de un ANOVA. Se observó, que el 100% (30/30) de los aislados clínicos sensibles fueron inhibidos a concentraciones de péptido entre 4 – 8µg/mL y que el 100% (30/30) de los aislados multirresistentes se inhibieron a concentraciones entre 8 - 16µg/mL. Los resultados evidencian que el péptido tiene actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram negativas (MDR), por lo tanto, podría ser una alternativa promisorio para tratamientos médicos frente a este tipo de bacterias. La evaluación del efecto antimicrobiano de este péptido, aportará nuevos elementos en la búsqueda de alternativas efectivas para controlar las enfermedades infecciosas producidas por bacterias resistentes. Palabras clave: Péptidos antimicrobianos catiónicos, *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, *Klebsiella pneumoniae* multirresistente

Financing: Dirección General de Investigaciones de la Universidad Santiago de Cali bajo el proyecto número 44062111-847 Y el Laboratorio de Salud Pública Departamental Valle (LSPD)- GOBERNACION DEL VALLE - COLOMBIA.

Determinación de los genes de virulencia y resistencia a los antibióticos y caracterización parcial de plásmidos en cepas clásicas hipermucoviscosas de *Klebsiella* spp. causantes de infecciones.

Brigida Michelle Vargas Cruz¹, Marco Arturo Pérez Sánchez¹, Diana Flores Percino¹, Elena Bello López², Guadalupe Jiménez Flores³, Rosa Del Carmen Rocha Gracia¹, Margarita María De la Paz Arenas Hernández¹, Patricia Lozano Zarain¹

(1) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Instituto de Ciencias, Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas, Edificio IC-11. Ciudad Universitaria. Colonia Jardines de San Manuel. CP. 72570., Puebla, Pue., México

(2) Instituto de Biotecnología, UNAM, Centro de Ciencias Genómicas, Avenida Universidad 2001, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, CP. 62210, Cuernavaca, Mor, México

(3) ISSSTE Hospital Regional Puebla, Av. 14 Sur 4336, Zona Sin Asignación de Nombre de Col 50, Jardines de San Manuel, CP. 72570, Puebla, Pue., México

Klebsiella spp. son con frecuencia patógenos oportunistas causantes de infecciones hospitalarias. La especie de mayor importancia clínica es *K. pneumoniae*, la cual ha ganado importancia debido a la aparición de cepas hipervirulentas y cepas clásicas MDR. La hipervirulencia, está mediada por diferentes factores de virulencia que incluye aerobactina y la sobreexpresión de la cápsula (fenotipo hipermucoviscoso). Sin embargo, ya se ha visto que las cepas clásicas también pueden expresar dicho fenotipo y además ser multirresistentes a diversos antibióticos utilizados en la práctica clínica. Recientemente, se informó de la confluencia entre los genes de resistencia y virulencia de ambos patotipos mediado por plásmidos, lo que ha propiciado que surjan cepas potencialmente peligrosas para la salud. Métodos Se trabajó con 75 cepas y tres genomas de *Klebsiella* spp. aisladas de pacientes de hospitales y de la comunidad de Puebla y CDMX del periodo 2016-2018. Se determinó la susceptibilidad a los antibióticos (Kirby-Bauer), el fenotipo de hiperviscosidad (prueba de cuerdas) y el gen *rmpA*, el genotipo de resistencia a β -lactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas (PCR y secuenciación); *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*CTX-M, *bla*KPC, *bla*NDM, *bla*VIM, *bla*IMP, *aac*(6')-Ib, *aac*(3)-II, *qnrA* y *qnrB*, y se determinó el perfil y caracterización de plásmidos de las cepas resistentes a carbapenémicos (Kieser, PFGE-S1 y Carattoli). Se realizó el ensamble y anotación de la secuencia de tres genomas de *Klebsiella* (Illumina, Spades, RAST) y se realizó un análisis comparativo de los genes de resistencia y virulencia por diferentes herramientas bioinformáticas. Resultados Los sitios de aislamiento de las cepas fueron: urocultivo 42.2%, hemocultivo 20%, lavado bronco alveolar 17.7%, y otros 31.1%. De los servicios de: medicina interna 26.6%, pediatría 16.6%, nefrología 11.6% y otros 44.9%. Las especies correspondieron a *K. pneumoniae* (69) y *K. oxytoca* (6). El 12.2% fueron hipermucoviscosas. Las cepas aisladas de hospitales fueron MDR, mientras que las de la comunidad fueron sensibles a los antibióticos. Se identificó 92% a *bla*SHV-1, 81.3% *bla*TEM-1, 65.3% *bla*CTX-M-15, 10.6% *bla*VIM-23 (asociado a un integrón de clase I), 76% *aac*(6')-Ib, 8% *aac*(3)-II y 69.3% *qnrB*. Las cepas MDR rCARB portaron plásmidos de los grupos Inc: FIA, Y, FIC y CoeIETp. Los genomas de las 3 cepas secuenciadas correspondieron a *K. quasipneumoniae* (1) y *K. pneumoniae* (2), las ST fueron: 1542, 867 y 20. Se encontraron genes de resistencia a β -lactámicos, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, entre otros. Los antígenos K y O fueron: KL22/O5, KL81/OL101, KL28/O1v2 y los genes de virulencia incluyeron: fimbrias tipo I, III, IV, ECP; los sideróforos: *iutA* y *fepA*; y otros genes como: T6SS, *ureD*, *pgaABCD*, *MivM* y *KfuBC*. Conclusión Se reporta por primera vez *bla*VIM-23 en cepas de *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* MDR de diferentes hospitales. Los plásmidos de los grupos FIA, Y, FIC y CoeIETP fueron los más encontrados. Se aislaron cepas hipermucoviscosas MDR, pero no se encontró el gen *rmpA*. Se identificó un aislamiento de *K. quasipneumoniae* por primera vez en un hospital pediátrico. Se encontró una cepa perteneciente al ST20, reportado como un linaje MDR de alto riesgo. Además, se encontraron los genes *iutA*, *kfuBC*, *MivM*, reportados en cepas hipervirulentas.

Financing: Este proyecto fue financiado con recursos de la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Efectividad in vitro de ceftazidime-avibactam en combinación con aztreonam sobre Enterobacterales productores de carbapenemasa

Romina Papa Ezdra¹, Lucía Araújo¹, Leticia Caiata¹, Federica Ferreira¹, Pablo Avila¹, Verónica Seija², Antonio Galiana³, Inés Bado¹, Rafael Vignoli¹

(1) Universidad de la República, Dpto. de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

(2) Hospital de Clínicas, Universidad de la República, Dpto. de Laboratorio Clínico, Facultad de Medicina, Avenida Italia S/N, Montevideo, Uruguay

(3) Hospital Maciel, ASSE, Unidad de Enfermedades Infecciosas, 25 de Mayo 174, Montevideo, Uruguay

La resistencia a carbapenems en bacilos Gram negativos es un problema de creciente preocupación, lo que ha conducido al estudio de nuevas combinaciones antibióticas para su tratamiento. El avibactam es un inhibidor de β -lactamasas no derivado de los β -lactámicos, con actividad sobre β -lactamasas de clase A (BLEEs, serin-carbapenemasas), clase C y algunas D, pero no sobre clase B (metalo- β -lactamasas, MBL). Aztreonam es un β -lactámico que no es hidrolizado por MBL, pero sí por serin- β -lactamasas y AmpC, que frecuentemente se asocian con MBL. Objetivo: Estudiar la efectividad in vitro de la combinación de discos de ceftazidime-avibactam (CZA) y aztreonam (ATM), y evaluar la concentración inhibitoria mínima de CZA en presencia de ATM, en aislamientos clínicos de Enterobacterales productores de carbapenemasas. Métodos: Se seleccionaron 60 aislamientos clínicos no repetidos de Enterobacterales portadores de carbapenemasas, pertenecientes a las familias Enterobacteriaceae (n=48) y Morganellaceae (n=12). Se realizó test de sinergia de doble disco por difusión de Kirby-Bauer, colocando discos de CZA y ATM a una distancia de 1,5-2,5 cm. El agrandamiento del halo de uno u otro antibiótico en la zona entre los discos se interpretó como sinergia positiva. Adicionalmente, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de ATM por agar dilución, y se seleccionaron 30 aislamientos resistentes a ATM para determinar CIM de CZA por E-test, tanto en Mueller-Hinton convencional como suplementado con ATM 4 mg/L. Los halos de inhibición y valores de CIM se interpretaron según CLSI. Se definió efectividad de la combinación cuando el microorganismo era sensible a alguno de los dos antibióticos o se evidenciaba una sinergia positiva por cualquiera de los dos métodos. Resultados: Entre las 60 cepas seleccionadas, 46 eran productoras de NDM-1, 11 de KPC-2, dos de NDM-1+KPC-2, y una de VIM-2. En relación al perfil de susceptibilidad, 21 fueron resistentes a CZA y ATM, 16 solo resistentes a CZA, 18 solo a ATM, y 5 susceptibles a ambos. En los 60 aislamientos se consideró la combinación efectiva, en 12 por ser sensibles a al menos uno de los agentes, y en los 48 restantes por presentar un test de sinergia positivo. En 30 aislamientos ATM resistentes se determinó la CIM a CZA en presencia y ausencia de ATM (18 NDM-1, 9 KPC-2, 2 KPC-2+NDM-1 y 1 VIM-2). En ausencia de ATM, 18 fueron resistentes a CZA con CIM > 256 mg/L, y los 12 restantes (incluyendo 2 NDM-1 y 1 VIM-2) fueron sensibles con CIM entre 0,5 y 4 mg/L. Sin embargo, en presencia de ATM, los 30 aislamientos presentaron CIM < 0,016 mg/L. Discusión: Tanto por test de doble disco, como por determinación de CIM, la combinación CZA/ATM fue efectiva in vitro sobre el 100% de los aislamientos estudiados. La combinación fue sinérgica incluso en aislamientos sensibles a CZA, lo cual sugiere algún mecanismo adicional de interacción de las drogas. La utilidad de la combinación CZA/ATM impresiona prometedora para el tratamiento de pacientes con infecciones por Enterobacterales portadores de diversas carbapenemasas.

COLONIZACIÓN RECTAL POR BACTERIAS MULTIRRESISTENTES, EN PACIENTES INTERNADOS EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL HOSPITAL REGIONAL DE CIUDAD DEL ESTE, PARAGUAY, 2019.

Nancy Segovia Coronel^{1,4}, Igor Kozar², Jousen Benegas³, Hilda Garcete³, Emilio Fleitas Mendoza⁴

(1) Centro de Investigaciones Médicas, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Km 16, Centro Urbano, Minga Guazú, Paraguay

(2) Carrera de Medicina, Programa de Iniciación Científica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Este., Km 16, Centro Urbano, Minga Guazú, Paraguay.

(3) Carrera de Enfermería, Trabajo Final de Grado, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Este., Km 16, Centro Urbano, Minga Guazú, Paraguay

(4) Hospital Regional de Ciudad del Este, Unidad de Cuidados Intensivos, Área 4, Ciudad del Este, Paraguay

Antecedentes: Las bacterias multirresistentes son un problema creciente a escala mundial, las infecciones que causan son difíciles de tratar. La colonización intestinal de pacientes críticos por bacterias multirresistentes es un factor importante para una posterior infección. La identificación de los pacientes colonizados es esencial para la toma de decisiones clínicas y para prevenir las infecciones asociadas a la atención sanitaria. **Objetivo general:** Describir la colonización intestinal por bacterias multirresistentes, en pacientes internados en la UCI del Hospital Regional de Ciudad del Este, Paraguay. **Materiales y métodos:** El estudio fue observacional, descriptivo de corte transversal. Se completó una ficha con los datos clínicos de los pacientes que incluyeron las variables sociodemográficas, motivo de ingreso, dispositivos médicos utilizados, tratamiento con antibióticos, enfermedades de base y días de internación. Se tomaron muestras de hisopados rectales en medio Amies, se cultivaron en agar cromogénico KPC y agar sangre con azida. Para la identificación de bacilos gramnegativos se utilizaron pruebas convencionales (TSI, Citrato, SIM, Urea, de Christensen, Orinitina, Fenilalanina) y el antibiograma por la técnica Kirby-Bauer para la interpretación se usó el CLSI 2019; para los cocos grampositivos se realizaron catalasa, coagulasa, bilis esculina y se usaron tarjetas de identificación y susceptibilidad del Vitek-2. Para la búsqueda de carbapenemasas en bacilos gramnegativos se utilizó el método de aproximación de discos y se confirmó por Blue Carba. **Resultados:** Se tomaron 52 muestras de hisopados rectales de pacientes internados en la UCI de las cuales el 65% (n=34) eran hombres y el 35% (n=18) mujeres, la media de la edad fue de 49 años, el traumatismo craneoencefálico fue el motivo más frecuente de ingreso en la UCI, los factores de riesgo de colonización por bacterias multirresistentes fueron tratamiento previo con antibióticos, estancia hospitalaria prolongada, infecciones respiratorias crónicas, uso de dispositivos médicos. El 80,8% (n=42) estaban colonizados con alguna bacteria multirresistente, el 7,69% (n=4) estaba colonizado con dos bacterias multirresistentes y no se observaron pacientes colonizados con más de dos. De las bacterias colonizantes el 70% (n=31) correspondió a los bacilos gramnegativos no fermentadores de azúcares, el 14% (n=6) a Enterobacterales resistentes a los carbapenemes, entre los cocos grampositivos el 11% (n=5) correspondió a *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) y 5% (n=2) *Enterococcus Vancomicina* resistente. Entre los enterobacterales productores de carbapenemasas el más frecuente fue *Klebsiella pneumoniae* 7% (n=3), *Klebsiella oxytoca* 2% (n=1), *Escherichia coli* 2% (n=1), *Enterobacter sp.* 2% (n=1), entre los no fermentadores de azúcares predominó las especies de *Acinetobacter sp.* en un 50% (n=22) y *Pseudomonas aeruginosa* 20% (n=9), todas las cepas de bacilos gramnegativos fueron sensibles a la Colistina. Entre los cocos grampositivos el 5% (n=2) correspondió a *Enterococcus faecium* y el SARM (n=5) 11%.

Conclusión: Se observó una alta resistencia a los antimicrobianos de las cepas que colonizaban a los pacientes internados en la UCI. Se recomienda instalar el tamizaje rectal de bacterias multirresistentes en las UCI del HRCDE como un pilar del programa de control de infecciones juntamente con un programa de optimización a los antimicrobianos.

Análisis in-silico del efecto de la T176del en la aminoglucósido 6'N-acetiltransferasa tipo Ib-cr [AAC(6')-Ib-cr] frente a amikacina y ciprofloxacina

Arturo Gonzales Rodriguez¹, **Juan Faya Castillo**¹

(1) Universidad de Piura, Medicina Humana, Calle Mártir José Olaya 162, Miraflores., Lima, Perú

La resistencia a aminoglucósidos mediada por la aminoglucósido 6'N-acetiltransferasa tipo Ib [AAC(6')-Ib] es uno de los principales mecanismos de resistencia hacia amikacina en los gram negativos. En el año 2008 se caracterizó a la variante AAC(6')-Ib-cr1, cuyas mutaciones D179Y y W102R le confirieron una capacidad extendida pero limitada de acetilación hacia ciprofloxacina, afectando, además, su nivel de resistencia hacia aminoglucósidos. Desde su detección han surgido diversas variantes que no han sido completamente evaluadas estructural ni cinéticamente frente a estos antibióticos. El objetivo de este estudio fue analizar in-silico el efecto de la delección de la T176 en la variante AAC(6')-Ib-cr frente a la AAC(6')-Ib-cr1, aproximando el posible comportamiento de estas variantes frente los fármacos mencionados. Metodología.-La secuencia aminoacídica de la variante AAC(6')-Ib-cr1 fue obtenida del NCBI bajo el código VCX88940.1, esta secuencia se mutó manualmente, deletando la T176. Ambas secuencias fueron modeladas con la técnica de modelamiento por homología, mediante el programa YASARA. Estas estructuras fueron acopladas, primeramente, con Acetil Co-A y luego con los fármacos ciprofloxacina y amikacina, cuyas estructuras fueron obtenidas de PubChem. Para el estudio de interacciones entre los fármacos y el sustrato se utilizó el programa PLIP, visualizado posteriormente en PyMol. Tanto el modelamiento como acoplamiento molecular y la energía de unión fueron realizados en el programa YASARA. Resultados.-El análisis in silico muestra que en la AAC(6')-Ib-cr1, el E55 en conjunto con la Y179 generan un estrechamiento en el sitio catalítico, lo cual puede explicar la baja eficiencia catalítica frente a amikacina y ciprofloxacina, descrita con anterioridad. En contraste, en la [AAC(6')-Ib-cr] T176del se observa un importante repliegue, de aproximadamente 5.0 Å, en el loop β6/β7, lo cual genera una apertura del sitio catalítico similar a la observada en la AAC(6')-Ib. El acoplamiento de la amikacina con la [AAC(6')-Ib-cr] T176del (-88.14 Kcal/mol) muestra una disminución en la interacción puente de hidrógeno de la P181 frente al residuo 2 - hidroxibutanamida y al enlace hidrofóbica entre la Y179 y el anillo 2-deoxiestreptamina en comparación a la AAC(6')-Ib-cr1 (-110,53 kcal/mol). Sin embargo, esto se ve compensado por la aparición de un puente de hidrógeno entre el D152 y el grupo hidroxilo en posición 4' del anillo A. En relación a la ciprofloxacina, el repliegue del loop β6/β7 en la [AAC(6')-Ib-cr] T176del (-48.19 Kcal/mol) impide la interacción π- stacking de la Y179 frente a la piridina del anillo dihidroquinolina, observada en la variante AAC(6')-Ib-cr1 (-51,27 kcal/mol). Se cree que esta interacción es necesaria para el correcto posicionamiento de la ciprofloxacina. En la [AAC(6')-Ib-cr] T176del este efecto se ve compensado con la interacción de la Y93 presente en la lámina β3. Discusión.-El estudio de potenciales mutaciones en la variante AAC(6')-Ib-cr es importante para predecir su comportamiento. La delección de la T176, a través del repliegue del loop β6/β7, genera una apertura en el sitio catalítico con una potencial mejora en la capacidad de acoplamiento de la amikacina y ciprofloxacina, lo cual se vería traducido en un aumento de su eficiencia catalítica frente a la AAC(6')-Ib-cr1.

Financing: Este estudio fue financiado por la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de Piura

Detección del gen de resistencia ermB en cepas de *Campylobacter coli* aisladas de pollos comercializados en mercados de Lima-Perú

Diego Enrique Anampa Álvarez¹, Christian Benites¹, Domingo Torres¹, Andrea Calderón¹, Miguel Angel Rojas Montes², Carlos Adam Conte Junior³, **César Aquiles Lazaro de la Torre**¹

(1) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Departamento de Ciencias Veterinarias Básicas, Facultad de Medicina Veterinaria, Av. Circunvalación 2800 - San Borja, Lima, Perú

(2) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Laboratorio de Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria, Av. Circunvalación 2800 - San Borja, Lima, Perú

(3) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Avenida Athos da Silveira Ramos, nº 149, Bloco A – 7º andar Centro de Tecnologia - Cidade Universitaria, Rio de Janeiro, Brasil

Campylobacter spp. es la bacteria más importante relacionada con casos de diarreas en humanos, este microorganismo está vinculado al consumo de carne de pollo que generalmente se contamina de esta bacteria al momento de un eviscerado deficiente. *Campylobacter* spp. presenta resistencia a diversos antimicrobianos lo cual hace que su tratamiento sea complicado, sobre todo en niños y personas inmunocomprometidas. Uno de los principales grupos de antibióticos usados en el tratamiento son los macrólidos. El objetivo del presente trabajo es detectar el gen ermB de resistencia a macrólidos en cepas de *Campylobacter coli* aisladas de piel de pollo comercializada en mercados de Lima Metropolitana (Perú). Un total de 117 cepas de *Campylobacter coli* previamente aisladas e identificadas fueron sometidas a un proceso reactivación mediante preenriquecimiento con caldo Preston sangre por 24h/42°C en condiciones de microaerofilia. Posteriormente, 100 µl del preenriquecimiento fue sembrado en agar mCCD por 48h en las mismas condiciones descritas en el preenriquecimiento. A partir de estos cultivos se realizó la prueba de sensibilidad antibiótica por el método de difusión en placa en agar Mueller-Hinton sangre inoculado con cultivo microbiano por 24h/42°C en condiciones de microaerofilia utilizando discos de azitromicina (15µg) y eritromicina (15µg). Las cepas con resistencia fenotípica fueron sometidos a la prueba de PCR para la identificación del gen ermB. Nuestros resultados muestran que todas las cepas mostraron resistencia a azitromicina y eritromicina siendo un 53% (62/117) las que presentaron el gen ermB lo cual lo posiciona como el principal mecanismo de resistencia a macrólidos. La detección y posible circulación de este gen, cuya característica principal es estar asociado a islas genómicas multidrogo-resistentes (cromosómicas o plasmidiales) sugiere un riesgo para la salud pública por la capacidad de *Campylobacter coli* para transmitir este y otros componentes de su genoma otras bacterias comensales y/o patógenas. Por otra parte, si bien la presencia del gen ermB es el principal mecanismo no sería el único, ya que un 47% de cepas restante no tuvieron dentro de su genoma este gen y deberían su resistencia antimicrobiana a otros mecanismos de resistencia.

Financing: Este trabajo fue financiado por el CONCYTEC-FONDECYT en el marco de "Proyecto Investigación Básica 2019-01 (número de contrato 405-2019) y por el VRIP-UNMSM en el marco "Proyectos de Investigación con financiamiento para GI-2021"

Caracterización fenotípica y molecular de cepas clínicas de *Escherichia coli* uropatógena productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Viviana Quiroz Luna¹, Laura María Contreras-Alvarado^{1,2}, Sergio Zavala-Vega³, Ariadna Cruz-Córdova¹, Karina Espinoza-Manzariego¹, Gerardo Escalona-Venegas¹, Sara Ariadna Ochoa-Perez¹, Juan Xicohtencatl-Cortes¹

(1) Hospital Infantil de México Federico Gómez, Laboratorio de Investigación en Bacteriología Intestinal, Calle Doctor Márquez 162 Delegación; Doctores, Cuauhtémoc, 06720 Ciudad de México, CDMX, México, Ciudad de México, México

(2) Instituto Politécnico Nacional, Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Prolongación de Carpio y, Calle Plan de Ayala s/n, Santo Tomás, Miguel Hidalgo, 11340 Ciudad de México, CDMX, México, Ciudad de México, México

(3) Instituto Nacional de Neuropatología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, Laboratorio de Neuropatología, Av. Insurgentes Sur 3877, La Fama, Tlalpan, 14269 Ciudad de México, CDMX, México, Ciudad de México, México

Las infecciones del tracto urinario (ITUs) son un problema de salud pública en México y son la 3a causa de morbilidad en la población infantil, mujeres en edad reproductiva y adultos mayores. *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) es el principal agente causal del 80-90% de las ITUs adquiridas en la comunidad y del 50-60% de origen nosocomial. Aproximadamente el 50% de las ITUs por UPEC en México, son multidrogosresistentes (MDRs), con perfiles de resistencia asociados con la producción de BLEE (β -lactamasas de espectro extendido), la cual les confiere resistencia a antibióticos betalactámicos. **Objetivo y Metodología:** caracterizar la susceptibilidad antibiótica por el método de Kirby-Bauer, determinar la expresión fenotípica de BLEE por prueba de sinergismo con doble disco, disco individual c/s ácido clavulánico y ensayo de Hodge (CLSI, 2020). Además, tipificar el potencial de virulencia a 17 genes, grupo filogenético, genotipo O25b, presencia de integrones clase 1 y 2, por PCR múltiple y analizar la diversidad genética de las cepas clínicas mediante ERIC-PCR, a un conjunto de cepas clínicas de UPEC recuperadas de pacientes pediátricos con ITUs en el HIMFG. **Resultados:** Se incluyeron 39 cepas clínicas de *E. coli*, la mayoría aislada del área de Nefrología (20%) y de ITUs (75%). El perfil de susceptibilidad antimicrobiana mostró resistencia a ampicilina, cefalotina y ciprofloxacina en 100%. Las cepas fueron sensibles en 100% a amikacina e imipenem y 84.62% a nitrofurantoina, el 46.1% de las cepas, mostró un perfil general de MDR a 7 categorías de antibióticos. El filogrupo D2 de Clermont, fue el más prevalente en 40%, mientras, el 58% de las cepas se identificaron con el serogrupo O25b. Los genes con alta frecuencia fueron, fimH en 90%, csgA, ecpA, motA y motB en 100%, int1 en 97.44% y RV-int1 en 41.1%. El análisis de los patrones por ERIC-PCR, confirmó una alta diversidad genética entre las cepas de UPEC productoras de BLEE, con ≥ 80 % de similitud. Además, se demostró que existía una alta similitud entre las cepas 855U-051219, 937U-051219, 833U1-051219 y 833U2-051219, estas cepas provenían de diferentes áreas del HIMFG, incluyendo: adolescentes, oncología y reumatología. Esto sugiere una probable diseminación de estas cepas. Sin embargo, mostraron diferencia en su grupo filogenético, genes asociados a la adherencia para la variante II de papG, toxinas cnf1 y hlyA. Las cepas 833U1-051219 y 833U2-051219 provenían de un mismo paciente del área de reumatología, sin embargo, se relacionaron con filogrupos diferentes B22 y D2, con mismo perfil de resistencia, esto sugieren que, si bien son cepas diferentes, la cercanía entre ellas, favoreció una posible transferencia horizontal de genes. **Conclusión:** Las cepas de UPEC productoras de BLEE presentan atributos patogénicos y de resistencia que les permiten infectar a los pacientes y persistir en el ambiente hospitalario.

Financing: Fondos Federales de la Secretaría de Salud: Tipificación de la clona epidémica O25b/ST131 en cepas clínicas de *Escherichia coli* uropatógena multirresistentes aisladas de niños con infección del tracto urinario. HIM/2017/107SSA.1421

Agentes etiológicos de infecciones urinarias en pacientes del Hospital de Clínicas, San Lorenzo, Paraguay, 2020

María Cristina Limousin Trinidad¹, Luz Romina Noemí Guanes Escobar², Jorge Canese³, Myrian Rivas Kiese⁴
(1) Universidad Nacional de Asunción, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Médicas, Asunción, Paraguay
(2) Universidad Nacional de Asunción, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Médicas, Asunción, Paraguay
(3) Universidad Nacional de Asunción, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Médicas, Asunción, Paraguay
(4) Universidad Nacional de Asunción, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Médicas, Asunción, Paraguay

Las infecciones del tracto urinario (ITU) originadas por bacterias ocupan el segundo lugar en la lista de procesos infecciosos tanto en pacientes ambulatorios como en internados. De hecho, las ITU son causantes del 35% de las infecciones nosocomiales. Según la Organización Mundial de la Salud, el consumo inadecuado de antibióticos y la automedicación aumentaron durante la pandemia de COVID-19; esto supone un creciente número de bacterias resistentes a antibióticos y su consecuente falta de alternativas terapéuticas que, en conjunto, constituyen uno de los principales retos en salud pública. Por ello, se buscó determinar la frecuencia de gérmenes aislados en urocultivos de pacientes atendidos en el Hospital de Clínicas en el año 2020 y describir el perfil de resistencia a los antimicrobianos de los microorganismos aislados. Métodos: Estudio observacional descriptivo, de corte transversal, retrospectivo, basado en el análisis de los datos de la Red Whonet de pacientes con sospecha de infecciones urinarias internados en el Hospital de Clínicas durante el 2020. Las tablas de la CLSI fueron empleadas para la interpretación de los valores de sensibilidad y resistencia. Resultados: En el año 2020 se procesaron 8419 urocultivos de pacientes pediátricos y adultos. Resultaron positivas 1114 muestras de adultos y 58% correspondía al sexo femenino. En cuanto a la procedencia de los pacientes, 43% de las muestras provenían de salas de internación, 32% de emergencias, 14% de contingencia y 11% de cuidados intensivos. Entre los gérmenes aislados, fueron más frecuentes los bacilos gramnegativos del orden Enterobacterales (57%), seguidos por cocos grampositivos (11%), levaduras del género *Candida* (15%), bacilos gramnegativos no fermentadores de glucosa (7%) y otros gérmenes con frecuencias individuales muy bajas que fueron agrupados (10%). *E. coli* (39%) fue el principal bacilo gramnegativo agente de ITU en adultos, seguido por *K. pneumoniae* (13%). Se aislaron también *Pseudomonas aeruginosa* (6%), *Enterobacter cloacae* (2%), *Proteus mirabilis* (2%), *Citrobacter freundii* (1%), *Acinetobacter* spp (1%); cocos grampositivos tales como *S. aureus* (3%) y *E. faecalis* (3%), *E. faecium* (2%), *S. agalactiae* (2%), *S. pyogenes* (1%), y otros microorganismos con menor frecuencia. En cuanto a las levaduras, aparecieron *Candida albicans* (7%), *C. tropicalis* (7%) y también *C. glabrata* (1%). Con respecto al perfil de resistencia de los microorganismos, algunos mostraron elevada resistencia a los antimicrobianos. Se menciona la resistencia a ampicilina sulbactam (32%) y ciprofloxacina (43%) de *E. coli*, pero la ausencia de resistencia a carbapenemes; en tanto que *K. pneumoniae* presenta resistencias altas a ciprofloxacina (70%), a cefotaxima (65%) y a imipenem (35%). *P. aeruginosa* tienen alta resistencia a piperacilina tazobactam (62%), ceftazidima (56%), imipenem (58%). Los *S. aureus* presentaron resistencia a la oxacilina (41%) y los *E. faecium* aislados fueron resistentes a la vancomicina (81%). Conclusiones: Sigue siendo *E. coli* el principal agente de infecciones urinarias. Resalta la alta resistencia a los antimicrobianos de uso frecuente, por lo que se recomienda realizar siempre el urocultivo ya que muchos microorganismos presentan betalactamasas de espectro extendido, carbapenemasas y otros mecanismos de resistencia que dificultan el tratamiento empírico. Palabras clave: infecciones urinarias, infecciones intrahospitalarias, resistencia bacteriana, antibióticos, resistencia a antibióticos.

Financing: Financiación: Propia.

Estudio de sensibilidad en micobacterias no tuberculosis aisladas de muestras de importancia clínica en Paraguay.

Rossana Franco¹, Rosmary Franco¹, Dorotea Bergen¹, Gerónimo Ortellado¹, Verónica Rojas¹, Pilar Muñoz¹

(1) Laboratorio Central de Salud Pública, Departamento de Tuberculosis, Av. Venezuela c/Tte Ecurra, Asunción, Paraguay

Las micobacterias no tuberculosis (MNT) son microorganismos ambientales ubicuos, oportunistas capaces de causar infecciones que van en aumento en todo el mundo, difíciles de tratar, que requieren un uso prolongado y combinando de antimicrobianos. Aunque aún hay información insuficiente para el tratamiento de muchas especies de MNT, el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ha definido criterios, recomendaciones y puntos de corte para la realización de pruebas de susceptibilidad a varios antimicrobianos, determinando que la concentración inhibitoria mínima (CIM) por microdilución en caldo es el estándar de oro. El Instituto Malbrán y el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Emilio Coni" de Argentina, también han establecido sus normativas. En Paraguay no hay publicaciones científicas acerca de la sensibilidad en MNT utilizando el método de referencia y el tratamiento es usualmente empírico. El estudio de sensibilidad es fundamental para el tratamiento, para conocer el perfil local de resistencia, y para monitorear la aparición de farmacoresistencia.

OBJETIVOS Determinar por el método de referencia la sensibilidad de MNT clínicamente relevantes frente a cinco drogas antimicobacterianas disponibles en el LCSP. **MÉTODOS UTILIZADOS** La CIM y el control de calidad se realizó por microdilución en caldo siguiendo la técnica descrita en el documento CLSI M24-A2 y por el Instituto Coni, y la interpretación de los resultados se realizó según el documento M62 del CLSI. Se estudiaron 46 cepas previamente tipificadas con indicadores de relevancia clínica. Los antimicrobianos estudiados fueron amicacina, claritromicina, ciprofloxacina, moxifloxacina y doxiciclina. **RESULTADOS OBTENIDOS** Por tipo de muestra: esputo 54,3%, secreciones purulentas 13%, absceso 13%, hemocultivo 10,9%, BAL 6,5%, biopsia 2,2%. Prevalencia de especies tipificadas: *M. abscessus* 32,6%; *M. intracellulare* 30,4%; *M. fortuitum* 13%; *M. branderi* 4,3%, *M. grupo smegmatis* 4,3%; *M. kansasii* 4,3%, *M. mucogenicum* 4,3%; *M. avium* 2,2%; *M. florentinum* 2,2%, 2,2% no tipificable. Distribución porcentual de sensibilidad a los antimicrobianos para grupo MAC: amicacina (iv) 80% sensible (S), 20% intermedio (I); claritromicina 66.7% S, 33.3 % resistente (R); moxifloxacina 80% S, 6.7 % I, 13.3 % R. Micobacterias de crecimiento rápido: amicacina (iv) 100% S; claritromicina 36% S, 16% I, 48% R; ciprofloxacina 36% S, 8% I, 56% R; doxiciclina 16% S, 12% I, 72% R; moxifloxacina 52 % S, 28% I, 20% R. **CONCLUSIÓN** Han sido testadas las dos drogas testables por CIM más importantes en el tratamiento de MNT que son en primer lugar claritromicina y luego amicacina, entre otras. La claritromicina, cuya sensibilidad se extrapola a azitromicina, presenta un porcentaje de resistencia de 33% en el grupo MAC, y 48% en MNT de crecimiento rápido. La amicacina es el antimicrobiano que mantiene un mayor porcentaje de sensibilidad. Los demás antibióticos dieron porcentajes variables de sensibilidad. Es muy necesario estudiar una vez disponibles, las demás drogas recomendadas por el CLSI para uso clínico, y testar también un mayor número de cepas para tener un perfil de resistencia local más representativo.

Evaluación del Efecto Modulador de Carotenoides en el Mecanismo de Acción de la Catelicidina Humana LL-37 en Modelos Representativos de *Staphylococcus aureus*

Jessica Múnera-Jaramillo¹, Marcela Manrique-Moreno¹, Elizabeth Suesca², Chad Leidy², Gerson-Dirceu López²
(1) Universidad de Antioquia, Química, Ciencias Exactas y Naturales, Cl. 67 #53-108, Medellín, Colombia
(2) Universidad de los Andes, Física, Ciencias, Cra. 1 #18a-12, Bogotá, Colombia

Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son una alternativa prometedora para el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos resistentes a múltiples fármacos como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Estas moléculas ejercen su actividad biológica a través de diversos mecanismos de acción, dentro de los cuales se destaca su efecto membranolítico, por lo que se considera relevante el estudio de las propiedades biofísicas y termotrópicas de las membranas, para el diseño de nuevos fármacos contra infecciones bacterianas. El estudio de estas propiedades se realiza con el uso de sistemas sintéticos, los cuales se construyen utilizando lípidos representativos de la membrana de *S. aureus*. Otros componentes fundamentales de la membrana de *S. aureus* son los carotenoides, biomoléculas de gran interés debido a que podrían tener una función similar a la del colesterol en las células eucariotas, actuando como reguladores de la fluidez de la membrana. Con el objetivo de estudiar el efecto modulador de los carotenoides sobre la actividad de un reconocido péptido membranolítico, se seleccionó la catelicidina humana LL-37. Este péptido está compuesto de 37 residuos, posee una carga +6 a pH fisiológico y es conocido por su actividad antimicrobiana, antifúngica y antiviral. Para los experimentos biofísicos se utilizó un sistema lipídico basado en la membrana de *S. aureus* utilizando fosfatidilglicerol:cardiolipina (PG:CL; 80:20), en presencia de carotenoides (10%). La extracción de carotenoides se llevó a cabo con MeOH:AcOEt:NaCl 1,7 M (1:1:3), y las proteínas fueron eliminadas utilizando CHCl₃:MeOH (2:1). Los experimentos se realizaron utilizando un equipo Tensor II de Bruker acoplado a una celda BioATR II, bajo una rampa de temperatura de 10 a 50 °C a una velocidad de calentamiento de 1 °C/min. Para los experimentos se depositaron directamente sobre la celda 20 µl de una solución stock PG:CL en cloroformo 20 mM, posteriormente el film fue hidratado utilizando buffer Hepes 20 mM, 500 mM de NaCl y 1 mM de EDTA con el fin de obtener bicapas soportadas. El análisis de los resultados mostró que, en ausencia de carotenoides, concentraciones crecientes del péptido LL-37 tienen la capacidad de alterar la temperatura de transición del sistema lipídico, lo que está relacionado con cambios en el comportamiento termotrópico de las multicapas soportadas. Sin embargo, se observó que se necesita una concentración mínima de LL-37, a partir de la cual el péptido tiene la capacidad de alterar la fluidez de la bicapa. Una vez los carotenoides fueron incorporados en el sistema lipídico, la actividad membranolítica de LL-37 disminuyó significativamente, observándose un aumento en la temperatura de transición del sistema, lo que está relacionado con un efecto de disminución de la fluidez de la bicapa, lo cual afecta de forma significativa la actividad del péptido LL-37. Estos resultados demuestran el papel de los carotenoides en la regulación de la fluidez de la membrana y su rol como moduladores del mecanismo de acción de los péptidos antimicrobianos.

Financing: Proyecto financiado por el Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación – MinCiencias (Cod. 120480763040, RC 846-2018).

Insights into the multi-azole resistance profile in *Candida haemulonii* species complex

Laura Nunes Silva¹, Livia Ramos¹, Simone Santiago¹, Lucas Magalhaes¹, Marta Branquinha¹, André Santos¹
(1) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Paulo de Goes, Centro de Ciências da Saúde - Bloco E, sala 5 - Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, Brasil

The *Candida haemulonii* complex (*C. duobushaemulonii*, *C. haemulonii*, and *C. haemulonii* var. *vulnera*) is composed of emerging, opportunistic human fungal pathogens able to cause invasive infections with high rates of clinical treatment failure. This fungal complex typically demonstrates resistance to first-line antifungals, including fluconazole. In the present work, we have investigated the azole resistance mechanisms expressed in Brazilian clinical isolates forming the *C. haemulonii* complex. Initially, 12 isolates were subjected to an antifungal susceptibility test, and azole cross-resistance was detected in almost all isolates (91.7%). In order to understand the azole resistance mechanistic basis, the efflux pump activity was assessed by rhodamine-6G. The *C. haemulonii* complex exhibited a significantly higher rhodamine-6G efflux than the other non-albicans *Candida* species tested (*C. tropicalis*, *C. krusei*, and *C. lusitanae*). Notably, the efflux pump inhibitors (Phe-Arg and FK506) reversed the fluconazole and voriconazole resistance phenotypes in the *C. haemulonii* species complex. Expression analysis indicated that the efflux pump (*ChCDR1*, *ChCDR2*, and *ChMDR1*) and *ERG11* genes were not modulated by either fluconazole or voriconazole treatments. Further, *ERG11* gene sequencing revealed several mutations, some of which culminated in amino acid polymorphisms, as previously reported in azole-resistant *Candida* spp. Collectively, these data point out the relevance of drug efflux pumps in mediating azole resistance in the *C. haemulonii* complex, and mutations in *ERG11p* may contribute to this resistance profile.

Financing: FAPERJ, CAPES and CNPQ.

Perfil de resistencia antimicrobiana de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* de una Unidad de Cuidados Intensivos.

Cristel Kennedy^{1,2}, Gladys Estigarribia¹

(1) Universidad Nacional de Caaguazú (UNCA), Instituto de Investigación en Salud (IRIS), Coronel Oviedo, Paraguay

(2) Hospital Regional de Coronel Oviedo "Dr. José Angel Samudio", Unidad de Terapia Intensiva de adultos (UTI-A), Coronel Oviedo, Paraguay

Klebsiella pneumoniae produce enzimas como Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) y Carbapenemasas. Estas enzimas tienen implicancia en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), porque posibilitan la supervivencia de especies bacterianas a condiciones desfavorables y por ende, facilitan su permanencia en ambiente intrahospitalario. Existe evidencia de presencia de *Klebsiella pneumoniae* en UCI, en muestras procedentes de: pacientes, personal de salud, habitación, lavamanos y fórmulas nutricionales. **Objetivo:** Evaluar el perfil de resistencia de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en una UCI de Paraguay. **Material y métodos:** Estudio descriptivo observacional, transversal. Se recolectaron 200 muestras (124 fórmulas enterales, 40 ambiente y 36 pacientes). Se utilizaron placas con medios rehidratables y medios convencionales para la inoculación, pruebas bioquímicas para la identificación y discos de antibióticos por método de disco difusión para las pruebas de sensibilidad. **Variables analizadas:** origen de muestra, presencia del germen, producción de enzimas y perfil de resistencia. **Resultados:** Se aisló *Klebsiella pneumoniae* en 14% de las muestras. Se identificó al germen en: 25% pacientes, 12,9% fórmulas enterales y 7,5% ambiente. Se observó producción de BLEE en 85,7% de las cepas, con perfiles de resistencia idénticos, y producción de carbapenemasas en 14,3% de las cepas, con perfiles de resistencia diferentes. **Conclusión:** la presencia y los perfiles de resistencia de *Klebsiella pneumoniae* en las tres clases de muestras estudiadas, sugieren transferencia de genes de resistencia y diseminación del germen en UCI.

Financing: Las autoras declaran no haber obtenido financiamiento de insituciones.

Potencial biomédico de nanopartículas de quitosano en la investigación in vitro de bacterias multifármaco-resistentes

Jorge Luis Mejía-Méndez¹, Eugenio Sánchez-Arreola¹

(1) Universidad de Las Américas Puebla, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Escuela de Ciencias, Santa Catarina Mártir Cholula, 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México

Dentro de los últimos años, la producción de nanopartículas (NPs) ha sido ventajosa en el desarrollo de sistemas de suministro de fármacos para el tratamiento y diagnóstico de enfermedades. Por este motivo, se tiene documentado el uso de NPs manufacturadas a partir de materiales tanto orgánicos como inorgánicos. Un claro ejemplo de lo anterior, son las NPs biopoliméricas. Las NPs biopoliméricas son estructuras ampliamente distribuidas en los componentes celulares de animales, microorganismos y plantas. De acuerdo con su naturaleza química, y propiedades farmacológicas, se han catalogado en tres ramas principales: polisacáridicas, polipeptídicas y polinucleotídicas. Por lo anterior, biopolímeros como el quitosano, ejecutan una excelente accesibilidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja toxicidad en sistemas biológicos. Estos fenómenos se atribuyen a diferentes factores, por ejemplo, su naturaleza policatiónica, interacciones electrostáticas, peso molecular, grado de desacetilación, método de síntesis, entre otros. Por ello, la producción de NPs de quitosano ha sido implementada en el nanoacarreamiento de compuestos terapéuticos, de agentes de imagenología, de enzimas, así como de materiales necesarios para la regeneración de tejidos. Además, han sido investigadas como una solución contra emergencias de salud pública mundial, como lo es la resistencia antibacteriana. La resistencia antibacteriana es una de las diez emergencias de salud pública en el mundo. El consumo excesivo, prescripción irracional, administración desmesurada, y evolución de mecanismos de resistencia ante fármacos antibacterianos, son factores responsables de la prevalencia de bacterias fármaco-resistentes en la sociedad. Por este motivo, a través de una breve revisión bibliográfica se expone el potencial farmacológico y biomédico de nanopartículas de quitosano como una estrategia terapéutica eficaz, económica y versátil para el estudio in vitro de bacterias multifármaco-resistentes. No obstante, también discutimos su impacto en el sistema de salud pública y en el futuro desarrollo de formulaciones farmacéuticas para la erradicación y/o mitigación de estos microorganismos.

Financing: Ninguno.

Caracterización molecular de aislamientos de *Escherichia coli* productores de mcr-1 obtenidos de materia fecal de cerdos en producción de Uruguay.

Nadia Coppola¹, Nicolas Cordeiro¹, Bibiana Freire², Gustavo Castro², Pablo Zunino³, Ines Bado¹, Rafael Vignoli¹
(1) UDELAR, Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Dr. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay
(2) UDELAR, Unidad Académica Animales de Granja, Facultad de Veterinaria, Alberto Lasplaces 1550, Montevideo, Uruguay
(3) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Departamento de Microbiología., Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

La resistencia antimicrobiana está aumentando en todo el mundo a niveles peligrosos. La colistina (COL) es considerado un antibiótico de importancia crítica y de máxima prioridad para su correcto uso en medicina y fue clasificado como de reserva por la OMS. En el 2015, se describió el primer mecanismo de resistencia transferible a colistina mediado por el gen *mcr1* y desde entonces se han descubierto diez variantes de *mcr* (*mcr-1* al 10), en enterobacterias aisladas de animales y humanos. Nuestro objetivo fue caracterizar los aislamientos de *E. coli* productores de *mcr-1* provenientes de materia fecal de cerdos en producción intensiva de Uruguay. En el marco de un programa de vigilancia de la resistencia a colistina en establecimientos productivos, en octubre de 2019, se tomaron muestras fecales de 10 cerdos de un establecimiento de Uruguay. Las muestras fueron sembradas en agar McConkey- lactosa con COL 3 µg/ml, y los aislamientos resistentes fueron identificados por MALDI-TOF. La sensibilidad a colistina se estudió por dilución en agar con y sin el suplemento de EDTA 1 mM en el medio. La confirmación genotípica se realizó mediante PCR y secuenciación de los amplicones. Se realizaron ensayos de conjugación, se estudió la clonalidad por PFGE; los secuenciotipos se analizaron por MLST y se buscaron los grupos de incompatibilidad plasmídica por PCR. Ocho de diez cerdos presentaron aislamientos de *E. coli* resistentes a colistina. Las 8/8 *E. coli* estudiadas mostraron una MIC ≥ 4 µg/ml COL, fueron positivas al screening de COL-EDTA y presentaron el gen *mcr-1*. En 2/8 aislamientos se evidenció la presencia de *bla*CMY-2. Los 8 alelos *mcr-1* estaban codificados en plásmidos conjugativos pertenecientes al grupo de incompatibilidad IncI2. Se evidenciaron 3 pulsotipos diferentes (PT1 en 6/8, PT2 en 1/8 y PT3 1/8). El PT1 perteneció al ST3944, el PT2 al ST10 y el PT3 al ST3322 perteneciente al complejo clonal ST86. El presente trabajo demuestra la circulación de *mcr-1* en distintos clones de *E. coli*, dentro de un mismo establecimiento productivo. Asimismo, se evidenció la co-circulación de *mcr-1* y *bla*CMY-2, algo que ya se había detectado en aislamientos clínicos de *E. coli* en humanos en Uruguay. El ST 3944 es un clon exitoso que se encontró circulando en varios animales dentro del establecimiento. Por otra parte, el ST10 que se evidenció en este establecimiento, es considerado de alto riesgo a nivel mundial y fue aislado de muestras humanas en nuestro país en estudios anteriores. La circulación de *mcr-1* en diferentes clones de *E. coli* es un evento preocupante que debe ser objeto de una estrecha vigilancia.

Novel complex class 1 integron carrying qnrB10 and blaCTX-M-2 in a twin variable region 2 found in a clinical *Citrobacter freundii* from Argentina.

Florencia Martino¹, Nathalie Tijet², Tomás Poklépovich³, Josefina Campos³, Alejandra Corso¹, Roberto Melano², Alejandro Petroni¹

(1) Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Departamento de Bacteriología, Servicio Antimicrobianos, Av. Velez Sarsfield 563, Buenos Aires, Argentina

(2) Public Health Ontario Laboratory, 661 University Avenue, Suite 1701, Toronto, Canada

(3) Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Plataforma Genómica y Bioinformática, Av. Velez Sarsfield 563, Buenos Aires, Argentina

The gene qnrB10 is one of the plasmid-mediated mechanisms that confer low level resistance to quinolones/ fluoroquinolones and blaCTX-M-2 encodes the extended-spectrum β -lactamase CTX-M-2. Complex class 1 integrons (CC1Int) harboring qnrB10 in variable region 2 (vr-2) were described as the genetic support of qnrB10 in clinical enterobacteria from Argentina (e.g., In37::ISCR1::qnrB10). Other CC1Int bearing blaCTX-M-2 in vr-2 are also broadly distributed in Argentina (e.g., In35::ISCR1:: blaCTX-M-2). Here, we describe a new CC1Int that harbors both qnrB10 and blaCTX-M-2 in two consecutive (twin) vr-2 and is located in a 61,205-bp IncN conjugative plasmid. *Citrobacter freundii* Q4143 was isolated from urine of a hospitalized patient in the Province of Chaco (Argentina, 2007). Biparental conjugation was performed using *Escherichia coli* J53 resistant to sodium azide (Az-R), as recipient. Plasmid profile was assessed by S1 nuclease. Whole genome sequencing (WGS) was performed by Illumina (MiSeq) and Oxford Nanopore Technologies (MinION). MiSeq and MinION DNA reads were used for hybrid assembly with Unicycler. Sequences were annotated with PROKKA and manually curated. PlasmidFinder, ResFinder, ISFinder and OriTfinder were used to identify incompatibility groups (Inc), resistance genes, insertion sequences and conjugative regions, respectively. Sequence comparisons were performed with Nucleotide BLAST, using the NCBI Nucleotide Collection Database (NCBI-DB), and Artemis Comparative Tool. Results. *C. freundii* Q4143 harbored 6 plasmids of about 52, 60, 115, 200, 220, 245 kb. Both 60 and 200-kb plasmids were cotransferred to *E. coli* J53 Az-R, rendering transconjugant TC-M11222. WGS and hybrid assembly of TC-M11222 rendered three circular contigs: the chromosome (4.68 Mb) and two plasmids named pCfrQ4143_61 (61,205 bp, IncN group) and pCfrQ4143_200 (200,887 bp, IncC group). The resistance genes blaOXA-1, blaCTX-M-2, arr-3, catB3, aac(6')-Ib-cr, qnrB10 and sul1, and a complete conjugative machinery were identified in pCfrQ4143_61. ISFinder showed that insertion sequences accounted for 8% of pCfrQ4143_61 sequence. pCfrQ4143_61 contained a CC1Int not previously described in NCBI-DB, which included two copies of ISCR1 and three of 3'-conserved sequence (3'CS1, 3'CS2, 3'CS3). The 5'-conserved sequence, the cassette region or variable region 1 (vr-1) [aac(6')-Ib-cr/blaOXA-1/catB3/arr-3] and 3'CS1 were 100% identical to In37::ISCR1::qnrB10. The vr-2 of the new CC1Int differed from In37::ISCR1::qnrB10 because the sapCBA operon, located downstream to qnrB10 was interrupted by ISSen4. The remaining structures of In37::ISCR1::qnrB10 were also found in the new CC1Int: qnrB10, Δ pspF and 3'CS2, with its characteristic 68-bp deletion. However, the 3'CS2 of the new CC1Int was followed by a second copy of ISCR1; the vr-2 of In35::ISCR1:: blaCTX-M-2 harboring blaCTX-M-2, and a third copy of 3'CS3, with the typical 71-bp deletion found in In35::ISCR1:: blaCTX-M-2. The new CC1Int was named In37::ISCR1::qnrB10::ISCR1::blaCTX-M-2. Conclusions. These findings suggest that In37::ISCR1::qnrB10::ISCR1::blaCTX-M-2 emerged from two homologous recombinations between In37::ISCR1::qnrB10 and In35::ISCR1::blaCTX-M-2 (a model is proposed). This assumption implies that the CC1Int are able to acquire new resistance genes not only as cassettes in vr-1, but also as twin vr-2 through homologous recombination between different CC1Int. Their locations in conjugative plasmids could enhance even more its role in the dissemination of antimicrobial resistance genes, contributing to multiresistance.

Colistin resistance in the pork production chain: a screening approach

Nayla Kellen de Oliveira Ventura¹, Lorena Natalino Haber Garcia¹, Wendel Mayer de Souza Rezende¹, Flaviana Antunes Sousa¹, Marcus Vinícius Coutinho Cossi², Luís Augusto Nero¹, Ricardo Seiti Yamatogi¹

(1) Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, InsPOA - Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Viçosa, Brazil

(2) Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, LIPOA - Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Uberlândia, Brazil

In the last decades, multi-drug resistant (MDR) bacteria became an important theme studied and reported worldwide. Such a situation is a big public health issue because some antibiotics commonly used in human or animal treatment are becoming ineffective. As a last resource, drugs like colistin that had its use reduced because of its toxicity in the past, started to be used again as a last-line treatment for infections caused by Gram-negative bacteria. As result, its use provides colistin resistance in many enterobacteria, such as *Escherichia coli*, representing an emerging concern about MDR bacteria. That way, the aim of this study was to investigate the resistance profile to colistin from *E. coli* isolated from swine and wastewater from a pig slaughterhouse from Uberlândia – Minas Gerais, Brazil. A total of 100 isolates were cultivated in brain heart infusion broth, incubated at 37°C for 24 hours, streaked on MacConkey Agar and incubated at the same conditions mentioned before. The colonies were then adjusted in saline solution to obtain the turbidity of 0,5 McFarland, and 50 µL of this inoculum was transferred to 4 tubes of cation-adjusted Mueller-Hinton broth containing colistin discs (10 µg), presenting the following concentrations of this antibiotic: zero (control), 1, 2 and 4 µg/ml as determined by the Broth Disk Elution Test method. After the incubation period; 20 hours at 33°C, the tubes that presented a cloudy appearance had their minimum inhibitory concentration visually evaluated and interpreted according to the protocol; being classified as intermediate (≥ 1 and ≤ 2 µg/mL) or resistant (≥ 4 µg/mL). In total, 99 *E. coli* were obtained from pigs, being 33 (33.33%) classified as resistant and 16 (16.16%) as intermediate. Furthermore, 51.22% of 41 pigs harbored resistant strains, as well as 1 isolate obtained from treated wastewater, which presented the same classification. The results revealed that the Colistin Broth Disk Elution Test is a practical and fast screening method to evaluate colistin resistance and that the widespread dissemination of *E. coli* strains resistant to colistin in the pig production chain is a worrying situation. Furthermore, these data contribute to decision-making, in the sense of controlling the use of colistin in swine production, once we only achieve effective control and prevention with the animal-environment-human interface.

Financing: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001 and CNPq.

Evaluation of of cultivable microorganisms in risky sites for horizontal gene transfer of antibiotic resistance

João Vitor Wagner Ordine¹, Ana Flávia Tonelli Scaranello¹, María Eugenia Guazzaroni¹

(1) University of São Paulo, Department of Biology, Faculty of Philosophy, Science and Letters at Ribeirão Preto, Avenida Bandeirantes, 3900, Ribeirão Preto, Brasil

The issue of the growing cases of antibiotic resistant bacteria is a world-wide preoccupation, due to the increasing numbers of multidrug resistant microorganisms. Despite the advances in research concerning drug development, microorganisms keep adapting themselves and become more resistant every day. Besides that, it's more evident that human and environmental bacteria share antibiotic resistance genes. This scenario can be exacerbated when there is anthropic activity, such as agricultural and cattle sites, which make a selective pressure, due to the intensive use of antibiotics, favoring the presence of resistant bacteria. Because of this, monitoring risky sites is needed, in an attempt to stop the increase of the resistance. Methods. Seven soil samples were collected, from different sites, with differential anthropic activity, and then processed. It was needed to prepare the antibiotics used in the selective media (levofloxacin and colistin-sulfate) and the processed soil samples were plated in a LB+antibiotic media. Consecutive isolation and visualization of the microorganisms with the Gram-staining were realized to obtain pure cultures. The isolates had their genomic DNA extracted and a PCR was realized for amplifying the 16S rRNA gene. The samples were sent to sequencing and platforms such as BioEdit, ClustalOmega, FinchTV and BLAST were used in the analysis and in the identification of the isolates, based on a minimum cutoff of 97% similarity to the sequences deposited in the latter platform. Results. Among all the isolates, eight of them shown to be resistant to colistin or levofloxacin, with most of them being derived from soils with intense anthropic activity. During our research, we found that this resistance has never been described before in the literature. Conclusions. These previous results indicate the necessity of monitoring sites of intense anthropic activity, since these environmental bacteria presented a novel resistance to clinical antibiotics. More tests are needed to confirm this resistance and promote more information about these bacteria, such as MIC and disk diffusion tests, along with an analysis of their whole genome, which would provide an insight about the genetic elements of this resistance and/or the presence of other elements that would lead to resistance to other classes of antibiotics . Key words: antibiotic resistance, soil microorganisms.

Financing: São Paulo Research Foundation (FAPESP)

Caracterización genética y antibiograma de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) de origen hospitalario y comunitario aisladas de la V región de Chile, durante el período 2017 – 2019

Camila Quintana¹, Carmen Aravena Molló¹, Rosa Del Campo Moreno², Jenny Llanos¹, Natalia Huertas², Claudia Saralegui², Pamela Araya³, Rocío Aguero Moreira³

(1) Universidad de Valparaíso, Facultad de Medicina, Magíster en Ciencias Médicas, mención Biología Celular y Molecular, Angamos 655, Viña del Mar, Chile

(2) Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Servicio de Microbiología, Carretera de Colmenar Km 9,1. 28034, Madrid, España

(3) Instituto de Salud Pública de Chile, Marathon 1000, Ñuñoa, Chile

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) surge a partir de la década de los 60' por el uso de meticilina para tratar infecciones por cepas *S. aureus* resistentes a penicilina, quienes al adquirir el gen *mecA* se vuelven resistentes a meticilina. SARM es causante de infecciones hospitalarias y comunitarias a nivel mundial, puede adquirir resistencia tanto a antibióticos betalactámicos como de otras familias y factores de virulencia como la leucocidina de Panton-Valentine. En la Quinta región de Valparaíso, Chile existe escasa información respecto a las características de cepas SARM, a partir de ello, el presente estudio buscó la caracterización genética y del antibiograma de cepas aisladas en Valparaíso en los años 2017, 2018 y 2019. Métodos: Se estudiaron 44 cepas SARM, de origen hospitalario y comunitario. Posterior a su recolección, se corroboró la identidad mediante los genes *spa* y *mecA* por PCR. Se determinaron: El antibiograma mediante difusión en disco de agar y CIM en caldo para vancomicina, el genotipo mediante presencia de los genes *pvl* y tipo de cassette SCCmec (I-V) por PCR, y la relación clonal fue estudiada por electroforesis en gel de campo pulsado y secuenciotipo (ST) por MLST. El análisis estadístico incluyó variables clínicas y se realizó mediante MyStat y Stata. Resultados: Cepas SARM fueron resistentes a eritromicina (72,7%), clindamicina (56,8%), levofloxacino (59,1%), teicoplanina (2,3%) y rifampicina (2,3%). Se identificó el gen *pvl* en el 84,1% de cepas. Los aislamientos de SARM correspondieron a 20 pulsotipos y mayoritariamente a los clones ST5-I-*pvl*+, ST8-IV-*pvl*+ (USA300), ST5-I-*pvl*- (clon chileno cordobés), ST8-I-*pvl*+, ST105-II-*pvl*+, ST20-IV-*pvl*+, ST225-II-*pvl*+, ST5-II-*pvl*- (NY/J, USA100), ST5-IV-*pvl*+ (clon pediátrico) y 4 aislados no pudieron ser tipados. Conclusiones: Las cepas SARM analizadas de nuestra región son en su mayoría multirresistentes a los antibióticos y son portadoras del gen *pvl*. Los dos linajes con mayor prevalencia son cepas variantes del clon chileno/cordobés perteneciente al complejo clonal 5 (uno de los más diseminados mundialmente), y el clon USA300. La variante nueva del clon chileno/cordobés se diferencia en ser *pvl*+.

Financing: El presente proyecto fue financiado por:- Programa Magister en Ciencias Médicas, mención Biología Celular y Molecular, Universidad de Valparaíso, Chile- Proyecto enmarcado en el proyecto ANID Folio: MEC 80180065, Chile

Emergencia y diseminación clonal de *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC-31 resistente a ceftacídima/avibactam en un hospital de Buenos Aires.

Federico Nicola¹, Francisco González Espinosa², Silvia Relloso¹, Jorgelina Smayevsky¹, Gabriel Gutkind², Marcela Radice², **Daniela Cejas**²

(1) Cemic, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas, Buenos Aires, Argentina

(2) Univesidad de Buenos Aires, IBAViM, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junin 956, Buenos Aires, Argentina

A partir del 2017 en Estados Unidos se describieron mutaciones puntuales de KPC-3, como D179Y, designada como KPC-31, involucradas en el aumento de la resistencia a ceftacídima/avibactam (CZA), con disminución en los niveles de resistencia a los carbapenemes, piperacilina / tazobactam, cefepime, ceftriaxona y aztreonam respecto de KPC-3. KPC-31 también fue reconocida en aislamientos de *K. pneumoniae* recuperados en Italia, Francia y Alemania. En 2018 en Argentina se aprobó el uso terapéutico de CZA, de manera coincidente con el primer reporte de la carbapenemasa KPC-3. El objetivo de este trabajo fue estudiar los mecanismos responsables de la resistencia a CZA en 4 aislamientos de *K. pneumoniae* recuperados en un Hospital privado de Buenos Aires, Argentina. **Materiales y Métodos:** Los aislamientos C01, C02, C03 Y C04 se recuperaron de 4 pacientes entre abril-junio de 2021, de muestras de catéter, aspirado traqueal, hemocultivo y urocultivo, respectivamente. Se determinó la sensibilidad a CZA por método epsilométrico y al resto de los antibióticos por sistema Phoenix (BD), y se interpretó de acuerdo con las normas del CLSI y FDA, según corresponda. La detección fenotípica de carbapenemasas se evaluó mediante ensayos de sinergia de doble disco entre carbapenemes y ácido fenil borónico (300 µg) para KPC, o carbapenemes y EDTA (1 µmol) para metalo-β-lactamasas (MBL). El screening genotípico de las carbapenemasas blaKPC, blaOXA-48-like, blaNDM, blaIMP, blaVIM y blaSPM se llevó a cabo mediante multiplex PCR según Poirel, et al. La identificación de blaKPC se realizó mediante PCR simple con cebadores específicos y secuenciación del fragmento amplificado. La tipificación de los aislamientos se realizó por macro-restricción del genoma con XbaI seguido de electroforesis de campo pulsado (PFGE). **Resultados:** Todos los aislamientos fueron resistentes a ceftacídima, ceftriaxona, cefepime, ertapenem y CZA. A su vez, C03 fue resistente a piperacilina-tazobactam (PTZ), ampicilina-sulbactam (AMS) y meropenem (MER), y resultó intermedio a imipenem (IMP). Los 3 aislamientos restantes fueron sensibles a PTZ, MER e IMP, e intermedios a AMS. Todos los aislamientos fueron sensibles a amikacina, gentamicina y TMS; y resistentes a colistin y ciprofloxacina. Dos aislamientos fueron sensibles y 2 intermedios a tigeciclina y solo C03 no fue sensible a fosfomicina. En todos los casos, los ensayos de sinergia de doble disco resultaron negativos para enzimas de tipo KPC y MBL. Por el contrario en el screening genotípico se detectó blaKPC. La secuenciación del fragmento correspondiente al gen completo evidenció la presencia de blaKPC-31. En la tipificación por XbaI-PFGE los aislamientos resultaron clonalmente relacionados. **Conclusiones:** Este trabajo corresponde a la primera detección en Sudamérica de blaKPC-31 y al reporte de su diseminación mediada por la propagación de aislamientos de *K. pneumoniae* clonalmente relacionados. La determinación de manera rutinaria de la sensibilidad a CZA y la posibilidad de detección molecular de genes de carbapenemasas resultaron eficaces para el cribado de KPC-31. Este hallazgo alerta sobre el riesgo de selección y la posible diseminación clonal de mutantes de KPC-3, posiblemente asociado al aumento del uso de CZA en diferentes escenarios clínicos.

Estudio de la sensibilidad a los antibióticos y caracterización genotípica preliminar de aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad en Entre Ríos, Argentina.

Martín Leonardo Mayta¹, Isabel Gomes Bittencourt¹, Kelen Dias Machado¹, Jonathan Factor¹, Gonzalo Gauto¹, Graciela Posse^{1,2}, **Melina Elizabeth Herrera**¹

(1) Universidad Adventista del Plata, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, 25 de mayo 99, Libertador San Martín, Entre Ríos, Argentina

(2) Sanatorio Adventista del Plata, 25 de mayo 255, Libertador San Martín, Entre Ríos, Argentina

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) se aísla frecuentemente tanto de infecciones nosocomiales (SARM-AH) como de la comunidad (SARM-AC). En los últimos años se han detectado clones comunitarios causantes de infecciones hospitalarias y viceversa, por lo que la distinción entre SARM-AC y SARM-AH ya no es tan delimitada. Hasta el momento no hay estudios en la provincia de Entre Ríos que aporten datos genotípicos sobre los SARM-AC circulantes en la región. El objetivo de este trabajo fue evaluar la sensibilidad a los antibióticos y caracterizar genotípicamente aislamientos de SARM-AC provenientes de pacientes atendidos en una institución de salud de la provincia de Entre Ríos, Argentina, durante el período 2014-2016. Materiales y métodos: se estudiaron retrospectivamente 29 aislamientos clínicos de SARM-AC, se determinó la sensibilidad a diversos antibióticos mediante método de difusión con discos y la CIM de oxacilina mediante E-test. Se extrajo el ADN genómico para realizar la amplificación por PCR de los genes *mecA* (codificante de la resistencia a meticilina) y *lukS/F-PV* (codificante de leucocidina de Pantón Valentine (LPV)), y determinar el tipo de SCCmec (Staphylococcal Cassette Chromosome mec) y grupo agr. Resultados: El 69% de los aislamientos provenía de muestras de piel y partes blandas, 20,7% de materiales óseos y 10,2% de otras muestras. Todos los aislamientos fueron resistentes a cefoxitina, siendo la mayoría sensibles a los otros antibióticos ensayados. Los porcentajes de No-Sensibilidad (R+I%) a los antibióticos fueron los siguientes: gentamicina (27,6%), ciprofloxacina (31%), eritromicina (17,2%), rifampicina (17,2%), clindamicina (6,9%), minociclina (3,4%), trimetoprima-sulfametoxazole (3,4%) y tetraciclina (3,4%). Todos los aislamientos eran portadores del gen *mecA*, sin embargo 5 de ellos fueron sensibles a oxacilina al determinar la CIM y se categorizaron como OS-SAMR (SARM sensible a oxacilina). En 69% (20/29) de los aislamientos se detectaron genes codificantes de LPV, de los cuales 85% (17/20) provenían de infecciones de piel y partes blandas. Veintitrés aislamientos (79,3%) tenían SCCmec tipo IV, 1/29 (3,4%) tipo III y 1/29 (3,4%) tipo I. En cuatro aislamientos no se pudo tipificar su SCCmec. Con respecto al grupo agr, 69% (20/29) corresponden al grupo III, 27,6% (8/29) al grupo II y 3,4% (1/29) al grupo I. Conclusiones: En este estudio se conocieron características genotípicas preliminares de los SARM-AC circulantes en la región estudiada, siendo importante profundizar este aspecto. Los SARM-AC estudiados, en su mayoría fueron sensibles a los antibióticos ensayados, siendo mayores los porcentajes de No-sensibilidad para gentamicina y ciprofloxacina. El hallazgo de OS-SARM resalta la importancia de detectar su presencia para aplicar medidas de control y tratamiento adecuadas.

Financing: Universidad Adventista del Plata

Determinación de la actividad antibacteriana de diversas especies de *Echeveria* sobre aislados clínicos de *Escherichia coli* uropatógena

ANA MARÍA CASTAÑEDA MELENDREZ¹, PATRICIA CATALINA GARCÍA CERVANTES¹, FRANCISCO DELGADO VARGAS¹, RODOLFO BERNAL REYNAGA¹

(1) UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA, UNIDAD DE INVESTIGACIONES "DRA. KAETHE WILLMS"; FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS, Calz de las Americas Nte 2771, Cd Universitaria, Burócrata, 80030 Culiacán Rosales, Sin, CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO

Escherichia coli uropatógena (UPEC) es el principal agente etiológico involucrado en las infecciones del tracto urinario (ITU), una de las afecciones patológicas más frecuentes en entornos comunitarios y hospitalarios, de la cual se producen alrededor de 150 millones de casos al año en todo el mundo. UPEC ha adquirido genes que codifican para factores de virulencia y resistencia antimicrobiana, los que en su conjunto facilitan la colonización, crecimiento y persistencia en el tracto urinario ocasionando daños en el hospedero. Es por ello que se requieren alternativas de tratamiento urgentes que contribuyan a combatir estas infecciones de importancia en salud pública, siendo las plantas una fuente importante de compuestos bioactivos que poseen actividad antibacteriana, tal como las especies del género *Echeveria*. Por lo anterior, este estudio tiene como objetivo determinar la actividad antibacteriana de los extractos de *Echeveria* sobre *Escherichia coli* uropatógena. **Materiales y métodos:** Se confirmó la identidad de los aislados clínicos de *Escherichia coli* mediante identificación bioquímica. Posteriormente, se determinó el perfil de susceptibilidad antimicrobiana por la metodología de difusión en agar; seguido de esto, se procedió a la identificación molecular, de siete aislados de UPEC mediante tres diferentes protocolos de PCR; uno de ellos para la identificación de los genes *papC*, *cnf1*, *fimA*, *fyuA* y *vat*; otro para los genes *iroN*, *KpsMTII*, *iutA* y *agn43*, y otro protocolo más para el gen *hlyA*. Finalmente se realizó un ensayo de microdilución en caldo para probar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de tres especies de *Echeveria* (*E. kimnachii*, *E. craigiana* y *E. subrigida*) frente a UPEC. **Resultados:** De siete aislados evaluados, se seleccionaron cuatro de ellos por su multirresistencia antimicrobiana siendo 100% resistentes a los siguientes antimicrobianos; Amikacina, Ampicilina, Carbenicilina, Ciprofloxacina y Gentamicina. Respecto a la genotipificación de las cepas, el gen que se encontró en mayor frecuencia fue *agn43* (85%), seguido de los genes *papC* (71%), *fimA* (57%), *iroN* (42%), *iutA* (57%), *fyuA* (28%) y *hlyA* (42%). Por último, se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto metanólico de *Echeveria subrigida* sobre las cepas seleccionadas, obteniéndose una concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés) de 5 mg/mL para los cuatro aislados respectivamente, mientras que para *Echeveria kimnachii* se encontró una MIC de 50 mg/mL para todas las cepas evaluadas; para *Echeveria craigiana* se determinó una MIC de 25 mg/mL para tres de los aislados y 50 mg/mL para el restante. **Conclusiones:** Los extractos metanólicos de diferentes especies de *Echeveria* tienen propiedades antibacterianas a diferentes concentraciones contra aislados clínicos multirresistentes de UPEC.

Financing: Beca de maestría CONACYT No. CVU: 1007906

Caracterización de bacterias Gram negativas con betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en urocultivos, CDE, Paraguay (2019).

Eva Fabiana Mereles Aranda¹, Maria Teresita Garcete Vera², Ana Rojas², Pasionaria Ramos³

(1) Universidad Nacional del Este, Cátedra de Microbiología, Ciencias de la Salud, Minga Guazú, Paraguay

(2) Microbac. Investigación y Microbiología, Ciudad del Este, Paraguay

(3) Universidad Nacional de Asunción, Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Asunción, Paraguay

Las infecciones urinarias causadas por bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aumentan los días y el costo del tratamiento; pueden ocurrir fallas terapéuticas y complicarse con infecciones sistémicas, colocando así en riesgo la vida del paciente. Objetivo: Caracterizar las bacterias Gram negativas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de urocultivo durante el año 2019. Materiales y métodos: estudio observacional, descriptivo, de corte transversal, temporalmente retrospectivo. Las muestras fueron recolectadas por pacientes de la comunidad con signos y síntomas de infección urinaria, desde enero a diciembre de 2019. El muestreo fue no probabilístico de casos consecutivos. Las bacterias fueron aisladas en agar Mac Conkey y agar sangre. El antibiograma se realizó por el método de difusión según Kirby Bauer, con interpretación de resultados según la tabla CLSI 2019. Se analizaron estadísticamente los resultados de urocultivo procesados en un laboratorio privado de Ciudad del Este. Se cumplieron los criterios éticos en cuanto a confidencialidad de los datos. Resultados: fueron analizados 1.106 urocultivos, la prevalencia de bacterias del grupo BLEE fue de 8,13 % (90). Las características demográficas de los pacientes fueron 62% (56) del sexo femenino. El promedio de edad fue de 45,52 años. El 55% (124) perteneció al grupo etario de mayores de 60 años. Al analizar la distribución de los urocultivos según sexo, en las mujeres el 100% (3) fueron cepas de *Citrobacter* spp., 69% (43) de *E.coli*, y 40% (10) de *Klebsiella* spp. El 67% (2) de las infecciones por *Citrobacter* spp., se presentaron en el grupo de edad de 0 a 20 años, 26% (6) de *Klebsiella* spp., en el grupo de edad de 21 a 40 años, 21% (13) de *E.coli* en el grupo de 41 a 60 años y 52% (12) de las *Klebsiellas* spp., en el grupo de mayores de 60 años. Las bacterias más frecuentes fueron *Escherichia coli* 68,89% (62), *Klebsiella pneumoniae* 25,56% (23), *Citrobacter* sp 3,33 % (3) y *Klebsiella oxytoca* 2,22% (2). El 100 % fueron resistentes a Cefalosporinas, 70% (63) a Quinolonas, 27,8% (25) Aminoglucósidos, y el 32% (29) fueron resistentes a antibióticos betalactámicos con inhibidores de betalactamasas. Conclusión: *Escherichia coli* fue la bacteria productora de BLEE betalactamasa aislada más frecuentemente de los urocultivos de pacientes femeninos. Se debe insistir en la correcta utilización de los antibióticos para evitar la propagación de las bacterias con mecanismos de resistencia. Palabras clave: betalactamasas de espectro extendido (BLEE), infección urinaria, *Escherichia coli*

Identificación de Carbapenemasas y mecanismos de resistencias acompañantes en Enterobacteriales en el Hospital Universitario en Uruguay

Federica Ferreira¹, Ines Bado¹, Veronica Seija², Pablo Ávila¹, Romina Papa¹, Rafael Vignoli¹, Pilar Gadea²

(1) Universidad de la Republica, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina

(2) Departamento de Laboratorio Clínico, Área Microbiología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina

La producción de carbapenemasas, no solamente inactivan a prácticamente todos los betalactámicos, sino que además suelen asociarse a múltiples genes de resistencia a otras familias de antimicrobianos como son aquellos denominados por la OMS como de importancia crítica para la salud humana. El objetivo de este trabajo consistió en la identificación de carbapenemasas en aislamientos resistentes a carbapenemes y la detección de genes de resistencia acompañantes en aislamientos clínicos de Enterobacteriales. Se estudiaron 32 Enterobacteriales productoras de carbapenemasas (EPC) provenientes de muestras clínicas obtenidas de pacientes internados en el Hospital de Clínicas durante el período 2017-2019. Las mismas fueron identificadas por MALDI-TOF y VITEK MS y su sensibilidad estudiada mediante el sistema VITEK® 2 Compact, disco difusión o determinación de la concentración inhibitoria mínima mediante dilución en agar. La detección de carbapenemasas fue realizada mediante BLUE CARBA test, kit "KPC+MBL Confirm ID-Rosco" y posteriormente PCR. Se realizó la búsqueda de genes de resistencia a fluoroquinolonas, oximinocefalosporinas y fosfomicina mediante PCR, junto a la presencia de elementos genéticos móviles tales como integrones de clase 1, y sus regiones variables, e ISCR1. Los genes qnr fueron confirmados mediante secuenciación. Resultados: Se estudiaron 32 aislamientos de EPC (*K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. oxytoca*, *M. morgani* y *P. rettgeri*), pertenecientes a 30 pacientes internado en el Hospital de Clínicas, los cuales eran portadores de carbapenemasas de tipo NDM (28), KPC (3), VIM (1). Estos provenían de muestras de orina (10), sangre periférica (11), hueso (2), lavado bronquioalveolar (2), líquido peritoneal (2), exudado de piel (2), punta de catéter (1) y secreción respiratoria (2). Los 32 aislamientos fueron resistentes a ceftazidime, cefotaxime y meropenem. Adicionalmente, se observaron 30 resistentes a imipenem, 28 resistentes a trimetoprim-sulfametoxazol, 23 a ciprofloxacina, 22 a cefepime, 21 a ceftazidime-avibactam, 20 a aztreonam, 13 a gentamicina, 10 a colistina (cuatro por resistencia natural) y 7 a fosfomicina (22%). 25/32 aislamientos presentaron genes qnr. 15/25 presentaron solamente qnrA, 5/25 qnrB y 5/25 ambos genes. Estos pertenecieron a las variantes qnrA1, qnrB1/qnrB2 y qnrB18-like. También se detectaron 9 aislamientos con la variante cr de la enzima Aac(6')Ib. Además, a aquellos aislamientos NDM+ que presentaron resistencia a aztreonam, se les realizó búsqueda de β -lactamasas de espectro extendido, encontrando aislamientos positivos para CTX-M-grupo 1. De los 7 aislamientos resistentes a fosfomicina, 2 resultaron positivos para el gen fosA. 17/20 de los aislamientos portadores de qnrA se encontraban en cepas portadoras de integrones de clase 1, cuyas regiones variables presentan tamaños de 700, 900, 1000 y 1800pb. A su vez, 12 de estas cepas estaban asociadas además a secuencias de inserción ISCR-1. Conclusiones: Se localizaron diversos genes de resistencia a antibióticos, considerados por la OMS de importancia crítica o de reserva para la salud humana en aislamientos clínicos portadores de carbapenemasas. La presencia de estos disminuye las opciones terapéuticas y, su detección junto a elementos genéticos móviles, representa un problema en el control de la diseminación de estos mecanismos dentro del hospital.

Perfil genotípico de cepas de *Escherichia coli* uropatogénica O25b multidrogorresistentes y extremodrogorresistentes causantes de infección urinaria en niños

Laura María Contreras-Alvarado^{1,2}, Viviana Quiroz-Luna¹, Sergio Zavala-Vega³, Ariadna Cruz-Córdova¹, Karina Espinoza-Manzariego¹, Gerardo Escalona-Venegas¹, Juan Xicohtencatl-Cortes¹, Graciela Castro-Escarpullí², Sara A. Ochoa-Perez¹

(1) Hospital Infantil de México Federico Gómez, Laboratorio de Investigación en Bacteriología Intestinal, Dr. Márquez No.162, Doctores, CP. 06720, Ciudad de México, México

(2) Instituto Politécnico Nacional, Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Prolongación de Carpio y, Calle Plan de Ayala s/n, Santo Tomás, Miguel Hidalgo, 11340, Ciudad de México, México

(3) Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, Laboratorio de Neuropatología, Av. Insurgentes Sur No. 3877, CP. 14269, Ciudad de México, México

En el 2008 se caracterizó un grupo clonal O25b de *Escherichia coli*, multidrogorresistente (MDR) distribuido en 3 continentes y con un genotipo virulento asociado al filogrupo B2 y relacionado con las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS). En México, la clona se reportó en el año 2011, sin embargo, existen pocos estudios en cepas clínicas de *E. coli* uropatogénica (UPEC) O25b asociadas a ITU en pediátricos. **Materiales y Métodos.** La tipificación de las cepas O25b fue por PCR- alelo específico. La resistencia fenotípica incluyó 10 familias de antibióticos (17 antibióticos individuales), producción de BLEE y MBL (CLSI, 2020). Los genes para el grupo filogenético, 17 genes de virulencia e integrones se realizaron por PCR múltiple. La diversidad genética fue por Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE). **Resultados.** Se tipificaron 129 cepas de UPEC como O25b. El perfil de susceptibilidad antimicrobiana mostró resistencia a ampicilina en 97.67 %, piperacilina-tazobactam en 90.69 %, cefalotina, cefaclor y tetraciclina en 82.94 % respectivamente. Las cepas fueron sensibles en 7.75 % a meropenem, imipenem y nitrofurantoína respectivamente. El status MDR, fue principalmente MDR-7 en 40.31 %. El filogrupo con mayor frecuencia fue B22 en 60.46 %. El 62.79 % de las cepas, fueron productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Se identificaron con mayor frecuencia (>80%) los genes *fimH*, *csgA*, *ecpA*, *papGII*, *motA*, *motB*, *iutD*, *chuA* y *satA*. Así como la presencia de integrones y región variable de clase 1. El análisis de los patrones por PFGE, confirmó una alta diversidad genética entre las cepas O25b, el 30.23 % de las cepas se encontraron cercanamente relacionadas con ≥ 80 % de similitud. **Conclusiones.** Las cepas tipificadas como O25b presentaron una mayor relación con el filogrupo B22, producción de BLEE, resistencia a 7 familias de antibióticos, presencia de integrones clase 1 y genes que codifican para fimbrias, captadores de hierro y toxinas, que le permiten establecer una infección en el tracto urinario. El análisis de diversidad genética por PFGE no mostró clonalidad en las cepas, sugiriendo un origen endógeno, los aislados se agruparon con base en el grupo filogenético y genes de virulencia.

Financing: Fondos Federales de la Secretaría de Salud: Tipificación de la clona epidémica O25b / ST131 en cepas clínicas de *Escherichia coli* uropatogénica multirresistentes aisladas de niños con infección del tracto urinario. HIM / 2017/107 SSA.1421

Resistencia antimicrobiana a quinolonas asociada al gen *gyrA* en cepas de *Campylobacter coli* aisladas de pollos en mercados de Lima-Perú

Diego Enrique Anampa Álvarez¹, Andrea Calderón¹, Christian Benites¹, Domingo Torres¹, Miguel Angel Rojas Montes², Carlos Adam Conte Junior³, **César Aquiles Lazaro de la Torre**¹

(1) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Laboratorio de Farmacología y Toxicología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Av. Circunvalación 2800 - San Borja, Lima, Perú

(2) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Sección de Inmunología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Av. Circunvalación 2800 - San Borja, Lima, Perú

(3) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Avenida Athos da Silveira Ramos, nº 149, Bloco A - 7º andar Centro de Tecnologia - Cidade Universitária, Rio de Janeiro, Brasil

Especies patógenas de *Campylobacter* spp. se relacionan con casos de diarreas en humanos, estos microorganismos están vinculado al consumo de carne de pollo la cual generalmente se contamina al momento del eviscerado. *Campylobacter* spp. presenta resistencia a diversos antimicrobianos lo cual hace que su tratamiento sea complicado, sobre todo en niños y personas inmunocomprometidas. Uno de los principales grupos de antibióticos usados en el tratamiento son las quinolonas. En los últimos años la resistencia frente a las quinolonas se ha incrementado asociada principalmente a mutaciones puntuales en la región de determinación de resistencia frente a quinolonas (RDRQ) de la proteína *gyrA*, El objetivo del presente trabajo fue detectar el gen *gyrA* de resistencia a quinolonas en cepas de *Campylobacter coli* aisladas de piel de pollo comercializada en mercados de Lima Metropolitana (Perú). Un total de 30 cepas de *Campylobacter coli* previamente aisladas e identificadas fueron reactivadas mediante preenriquecimiento con caldo Preston sangre por 24h/42°C en condiciones de microaerofilia. Posteriormente, 100 µl del preenriquecimiento fue sembrado en agar mCCD por 48h en las mismas condiciones descritas en el preenriquecimiento. A partir de estos cultivos se realizó la prueba de sensibilidad antibiótica por el método de difusión en placa en agar Mueller Hinton sangre con discos de ciprofloxacina (5µg) por 24h/42°C en condiciones de microaerofilia. Las cepas con resistencia fueron sometidas a la prueba de PCR para la identificación del gen *gyrA*. Para esto se realizó La extracción de ADN mediante el Kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega®) y el desarrollo de la PCR consistió en 5µl de ADN de la muestra con 20µl de Mix de PCR: PCR 2X 12,5µl, 0,25µl de cada primer (20 µM), 7µl de H₂O. Una vez completada la mezcla fue llevada al termociclador bajo el siguiente ciclo térmico: 10 minutos a 95°C, seguidos de 40 ciclos compuestos por 40 segundos a 94°C, 1 minuto a 55°C, 1 minuto a 72°C y un paso final de extensión de 7 minutos a 72°C e incubación a 4°C. La visualización de los productos se realizó por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Los primers utilizados para la reacción fueron *gyrA*-F(AAATCTGCTCGTATAGTAGGGGATGTTATCGGTAAGTATCATCCATGGCGGT) y *gyrA*-R(TCAGTATAACGCATCGCAGC) dando un producto de 179 pb. Los productos de la PCR fueron cortados del gel, siendo que 7 µl del producto obtenido fue mezclados con 3 µl de la enzima de restricción (RsaI), posteriormente fueron incubados a 37° C durante 2 horas y finalmente se desnaturalizo la enzima a 65°C durante 15 minutos. Luego de reposar el producto a 4°C el producto digerido fue corrido en un gel de Agarosa al 3%. Nuestros resultados muestran que un 40% (12/30) de cepas presentaron la mutación Thr86Ile del gen *gyrA*. Debido a que la proteína animal más consumida en el Perú es la carne de pollo, existe riesgo de que *Campylobacter* spp. y sus mecanismos de resistencia sean adquiridos por los consumidores determinando la aparición de enfermedades bacterianas que sean difíciles de erradicar con los tratamientos antimicrobianos convencionales.

Financing: Este trabajo fue financiado por el CONCYTEC-FONDECYT en el marco de "Proyecto Investigación Básica 2019-01 (número de contrato 405-2019) y por el VRIP-UNMSM en el marco "Proyectos de Investigación con financiamiento para GI-2021"

Prevalencia microbiana y perfil de resistencia antimicrobiana de cepas aisladas de leche bovina de cuartos mamarios positivos a CMT en 3 Departamentos del Paraguay

Raquel Pedrozo Prieto¹, Miguel Torres², Dalila López³, Neri Alonso⁴, Oscar Valiente Villalba⁵

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Ruta Mariscal Estigarribia Km 10,5, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Ruta Mariscal Estigarribia Km 10,5 Campus UNA, San Lorenzo, Paraguay

(3) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Ruta Mariscal Estigarribia Km 10,5 Campus UNA, San Lorenzo, Paraguay

(4) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Fabrica de Balanceados, Facultad de Ciencias Veterinarias, Ruta Mariscal Esitgarribibia Km 10, 5 Campus UNA, San Lorenzo, Paraguay

(5) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Bromatología Nutrición y Alimentación Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Ruta Mariscal Estigarribia Km 10,5 Campus UNA, San Lorenzo, Paraguay

La mastitis bovina es la inflamación de las glándulas mamarias de presentación endémica causada mayoritariamente por invasión de microorganismos patógenos y es considerada una de las más costosas en la industria láctea. Los antimicrobianos (ATM) se utilizan con frecuencia en las terapias para el control de varias bacterias que causan mastitis en las granjas lecheras. La aparición de las bacterias resistentes a los ATM es una de las razones de la baja tasa de recuperación de la mastitis y actualmente se considera un problema de salud pública en todo el mundo. El objetivo del presente trabajo fue identificar los grupos de especies microbianas más frecuentemente aislados y determinar el perfil de resistencia antimicrobianos (RAM) en función a los ATM y grupos de especies aislados. Para la metodología se tomaron 411 muestras de leche de igual número de vacas lecheras de cuartos mamarios positivos al test de mastitis de California (CMT) en 3 Departamentos del Paraguay (224, 137 y 50 de Central, Cordillera y Paraguarí, respectivamente), que se sometieron a cultivos microbianos de identificación fenotípica de especies, según método de Koneman et al. (1999). La sensibilidad a ATM, se evaluaron por dilución en placa según recomendaciones del CLSI (2013). La frecuencia absoluta y relativa de microorganismos y de resistencias a ATM se cuantificaron con el software Epiinfo 7.0. Los resultados fueron que los grupos microbianos más frecuentemente aislados fueron: los *Streptococcus* spp. en un 37,4%, el grupo *Staphylococcus coagulasa* negativos (SCN) en un 35,3% y los *Staphylococcus coagulasa* positivos (SCP) en un 16,1%. El perfil de RAM en orden decreciente de frecuencia fue: tetraciclina, penicilina, sulfatrimoprim, rifampicina y ampicilina (34,7; 19,7; 14,4; 8,2 y 6,4%, respectivamente), los *Streptococcus* spp fueron resistentes a 7/10 (rango de 51,3 a 1,7%), los SCN a 8/10 (rango de 29,7 a 2%), y los SCP a 7/10, (rango de 44,7 a 2,1%), mientras que las enterobacterias fueron resistentes a 7/20, fundamentalmente a la ampicilina (4/5). También se observaron multiresistencias, aunque en un número pequeño. En conclusión los grupos de microorganismos más frecuentes fueron los *Streptococcus* spp, seguido de los SCN y en tercer lugar los SCP, las RAM de mayor a menor, fue a tetraciclina, penicilina y sulfatrimetoprim, siendo todavía poco frecuente la multiresistencia,

Financing: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de Asunción, Programa Prociencia, Fondo para la excelencia de Educación y la Investigación.

Detección de genes del biofilm en aislados clínicos de *Escherichia coli* obtenidos de pacientes con infección en vías urinarias

Marco Antonio Hernández-Luna¹, Viridiana Guillermina Olmedo-Ramírez², Andrea Carolina Cuellar-Morquecho¹, Carlos García-Mendoza², Rebeca Monroy-Torres R¹, Jose Sergio López-Briones¹

(1) Universidad de Guanajuato, Medicina y Nutrición, Blvd del milenio 1001, León, Guanajuato, México

(2) Hospital General de Silao, Laboratorio de análisis clínicos, Silao, Guanajuato, México

Las infecciones de vías urinarias (IVUs) son de las infecciones de mayor recurrencia en el humano. El principal agente causal es *Escherichia coli* Uropatogénica o UPEC. La resistencia a antibióticos, así como el alto grado de reincidencia convierten a este microorganismo en un factor de riesgo elevado para el humano. Aunque la resistencia a antibióticos está asociada principalmente a la enzima b-lactamasa, en los últimos años uno de los mecanismos que ha generado interés, no solo por su participación en la resistencia a antibióticos, sino también porque su presencia en dispositivos médicos, como catéteres uretrales e intravasculares, articulaciones e injertos protésicos, ocasiona complicaciones en la salud del paciente, es el biofilm. Esta estructura está formada por polisacáridos, lípidos, ADN extracelular y proteínas que le dan una gran estabilidad. Entre las proteínas que se han asociado a la formación del biofilm en UPEC se encuentra la proteína de la fimbria FimH, las proteínas de membrana externa UpaB y UpaH y la proteína IHF. Por lo tanto, en este trabajo evaluamos la presencia de los genes que codifican para estas proteínas en aislados clínicos de *E. coli* obtenidas de pacientes con IVUs. Metodología: La resistencia a b-lactámicos se determinó creciendo las cepas de *E. coli* de los aislados clínicos en medio Luria Bertani (LB) con 100 mg/mL de ampicilina. La presencia del biofilm se determinó a partir de un subcultivo de 24 horas de las cepas de *E. coli*, crecidas en medio LB en placas de 96 pozos y posteriormente teñidas con cristal violeta al 1%. Para la cuantificación del biofilm, el cristal violeta se disolvió en ácido acético al 30% y se cuantificó por espectrofotometría a 550 nm. La detección por PCR de los genes de UpaB, UpaH, FimH e IHF se hizo utilizando oligonucleótidos específicos para cada uno de ellos, utilizando 250 ng de DNA total como templado. Como control de la formación del biofilm y la PCR para los genes de interés se usó la cepa CFT073 de *E. coli*. Resultados: Nuestros resultados muestran que en comparación al biofilm formado por la cepa CFT073, cuatro de las 12 cepas analizadas mostraron una mayor formación, 5 mostraron una menor formación y solo una no presentó biofilm. En cuanto al crecimiento en medio LB con ampicilina, la cepa que no presenta biofilm, una cepa con mayor formación y dos con menor formación del biofilm no crecieron en este medio. Por último, la presencia de los genes de IHF y FimH se observaron en las 12 cepas de *E. coli*, pero solo 3 cepas mostraron la presencia del gen de UpaB y dos presentaron el gen de UpaH. De forma interesante, la cepa que mostró la mayor formación del biofilm es la única que tuvo la presencia de los 4 genes al igual que la cepa CFT073. Conclusión: IHF y FimH se encontraron en el 100% de las muestras analizadas, mientras que UpaB y UpaH solo se encontraron en un máximo del 25 % de las muestras.

Financing: PROGRAMA EMPUJE CIENTIFICO Y TECNOLOGICO: MODALIDAD APOYO A INVESTIGADORES 2020. Instituto de Innovación, Ciencia y Emprendimiento para la competitividad para el Estado de Guanajuato.

Genetic determinants for Bacterial Heavy Metal resistance (HMR): An open-source and manually curated dataset for genomic and metagenomic analyses

Ester González Rivera¹, Roberto E. Durán¹, Michael Seeger¹

(1) Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Universidad Técnica Federico Santa María, Avenida España 1680, Valparaíso, Chile

Heavy metals are widely spread noxious pollutants in the soil and water. The accumulation within the environment is associated with anthropogenic activities, triggering ecosystemic disturbances. Due to the powerful antimicrobial properties of heavy metals, their presence in the environment constitutes a pivotal selective pressure for microbial development. As an adaptive mechanism against heavy metals, bacteria display an ample repertoire of genes directed to antagonize these stressors. Genetic determinants for bacterial heavy metal resistance (HMR) include the efflux of metals ions, metal-binding proteins, and metal ion reduction. Importantly, these HMR genetic determinants –resistome– are spread in the bacterial genome, both in chromosomes and mobile elements. The ubiquitous presence of heavy metals across the environment promotes the positive selection of HMR determinants in bacteria. Currently, BacMet is the only database including HMR genetic determinants, as a subset of antimicrobial resistance genes, last updated in 2017 and classifying only by metal resistance (i.e. arsenic, lead) without information about their resistance mechanisms or genomic location. Thus, the aim of this study was to assemble a detailed, up-to-date and robust database of the resistome of heavy metal-tolerant bacteria. We conducted an extensive search of the primary literature through PubMed, Google Scholar, Scielo and general search, using key terms as: “metal resistance bacteria”, “biocidal activity”, “heavy metals resistance”, “resistance genes”. The bacterial HMR genetic determinants were selected with experimental evidence only, metadata such as source organisms, gene description was obtained from UniProt and NCBI. These genetic determinants were then classified by heavy metal identity, taxonomic placement, molecular mechanism of resistance and genomic location. Almost 30 PubMed articles were used to build up the data base. 386 HMR genes with experimental evidence associated with HMR were retrieved: arsenic (35 genes), chromium (19 genes), mercury (46 genes), lead (3 genes), cadmium (40 genes), silver (18 genes), cobalt (61 genes), copper (99 genes), manganese (17 genes), magnesium (9 genes), molybdenum (12 genes), iron (33 genes), nickel (73 genes) and zinc (58 genes). Bacteria with HMR belonging to the phylum Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Cyanobacteria, Bacteroidetes, Spirochetes, Euglenozoa, Nitrospirae, Euryarchaeota and Crenarchaeota were analyzed. The in-house built database will improve the identification of future or unknown HMR genetic determinants, complementing genome and metagenomic analyses to understand the distribution of HMR genes in diverse environments polluted with heavy metals by natural, social and industrial activities.

Financing: This work was supported by Fondecyt 1200756 (M.S., E.G.-R., R.E.D.) and USM PI_M_2020_43 (R.E.D., E.G.-R., M.S.) grants.

Bacteriófagos líticos contra bacilos gramnegativos multirresistentes y resistencia fágica: Una revisión sistemática

Karla Nolivos-Rodríguez¹, Fausto Cabezas-Mera², Estefanía Tisalema-Guanopatin¹

(1) Universidad Central del Ecuador (UCE), Facultad de Ciencias Químicas, Ciudadela Universitaria –Avenida América, Quito, Ecuador

(2) Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Instituto de Microbiología, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales (COCIBA), Diego de Robles y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador

Actualmente, la resistencia a los antibióticos es una de las mayores amenazas para la salud mundial, por tanto, es necesario buscar alternativas y el empleo de la fagoterapia ha sido una de ellas, evidenciando resultados alentadores. Los bacteriófagos (fagos) son altamente específicos con sus bacterias hospederas, y su efectividad depende de varios factores como el tamaño de "explosión", el periodo de latencia, la polivalencia, la estabilidad a cambios de temperatura y pH. Sin embargo, la generación de resistencia bacteriana hacia los fagos ha limitado el uso de esta nueva alternativa antimicrobiana, por tanto, ha generado una búsqueda de combinaciones entre fagos (cócteles) o con antibióticos. Se realizó una revisión bibliográfica siguiendo los criterios PRISMA utilizando varias bases de datos: Scopus, PubMed, Cochrane Library y Medline. Los fagos reportados con actividad lítica contra sus hospederos pertenecían mayormente a las familias: Myoviridae, Podoviridae y Siphoviridae. Presentaron amplios rangos tanto en tamaños de explosión y periodos de latencia acompañados de una alta estabilidad térmica (hasta 130° C), pero afectados por ambientes ácidos, siendo restringido el pH óptimo entre 5 y 9. Además de la especificidad por la cepa huésped, existen reportes de fagos polivalentes, que infectan a bacterias de la misma familia o género como es el caso de las enterobacterias que comparten receptores de membrana. La caracterización de los fagos ha permitido su aplicación solos, en coctel o con antibióticos mediante diferentes vías de administración a varios tipos de pacientes. La administración por vía intravenosa evidenció ser la más efectiva, seguida de la vía oral. La administración por vía tópica fue la que presentó más efectos secundarios que incluyeron dolor en la zona de aplicación, eccemas y reacciones alérgicas. Por otra parte, la disminución en la adsorción inicial y los cambios en la motilidad bacteriana debido a mutaciones en genes involucrados en la biosíntesis del LPS (*galU*, *wzy*, *rfaL* y *rfbG*) y del pilus (*pilU*, *pilY1*, *pilE*, *pilB*, *pilN*, *pilR*, *pilT*), respectivamente, señalan posibles mecanismos de resistencia fágica. En conclusión, la fagoterapia es una alternativa viable para el tratamiento de infecciones por bacterias multirresistentes, pero uno de los principales inconvenientes para su éxito terapéutico es que las cepas hospedadoras, debido a un proceso de coevolución fago -bacteria, desarrollan resistencia rápidamente. Por lo que es necesario implementar estrategias para contrarrestar la resistencia fágica, incluso este mismo proceso de coevolución podría retrasar la aparición de resistencia.

Identificación y caracterización de plásmidos portadores de β -lactamasas y transferasas en aislados clínicos de *K. pneumoniae*

Jose Eduardo Toledano Tableros^{1,2}, Catalina Gayosso Vazquez², María Dolores Jarillo Quijada², José Luis Fernandez Vazquez², Silvia Giono Cerezo¹, Maria del Rayo Morfin Otero³, Eduardo Rodriguez Noriega³, José Ignacio Santos Preciado², Maria Dolores Alcántar Curie²

(1) Instituto Politécnico Nacional, Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Prolongación de Carpio y, Calle Plan de Ayala s/n, Santo Tomás, Miguel Hidalgo, 11340, Ciudad de México, México

(2) Universidad Nacional Autónoma de México, Laboratorio de Infectología, Microbiología e Inmunología Clínicas, Unidad de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Dr. Balmis 148, Doctores, Cuauhtémoc, 06720, Ciudad de México, México

(3) Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", Infectología, Calle Hospital 278, Centro Barranquitas, 44280, Guadalajara, Jalisco, México

Klebsiella pneumoniae posee resistencia innata solo a ticarcilina y ampicilina; sin embargo se ha observado que es una bacteria “colectora” de plásmidos de multi-drogo-resistencia lo que le permite adquirir genes de resistencia a diferentes familias de antibióticos. Los plásmidos de resistencia están clasificados en grupos o familias “Inc” lo que ha permitido rastrear la evolución y propagación. El objetivo de este estudio fue identificar y caracterizar la presencia de plásmidos portadores de genes de resistencia a β -lactámicos y aminoglucósidos en aislados clínicos de *K. pneumoniae*. MATERIAL Y METODOS Los aislados clínicos fueron colectados durante el año 2017 de pacientes que cursaron con bacteriemia nosocomial en el Hospital Civil de Guadalajara. La detección de los genes de las carbapenemasas blaKPC, blaIMP, blaVIM, blaNDM y blaOXA-48 así como de las BLEEs blaCTX-M y blaTEM se realizó por PCR convencional. En cuanto a la resistencia a aminoglucósidos se realizó PCR para identificar los genes de las transferasas aac(6')-Ib y aac(3')-IIa. Posteriormente se realizó un ensayo de conjugación con la cepa *E. coli* J53-2, a las transconjugantes obtenidas se les realizó un antibiograma y PCR para corroborar la transferencia de la resistencia antimicrobiana así como una extracción de plásmidos in situ para observar la transferencia de los plásmidos y estimar su talla molecular. Por último los plásmidos conjugativos fueron extraídos por lisis alcalina para ser sometidos a restricción con las enzimas EcoRI y HindIII para poder estimar su similitud por RFLP y por PCR convencional se determinó el grupo Inc al que pertenecieron. RESULTADOS Durante el periodo de estudio se identificaron en 43 aislados resistentes a β -lactámicos de los cuales el 79% (33/43) fueron portadores de los genes de las BLEEs blaCTX-M-15 y blaTEM-1 mientras que el 21% (10/43) fueron portadores de la carbapenemasa blaNDM-1. En cuanto a la resistencia a aminoglucósidos esta se encontró en 55 aislados de los cuales el 56% (31/55) fueron coportadores de los genes de las aminoaciltransferasas aac(3')-IIa y aac(6')-Ib. En los ensayos de conjugación realizados en los 33 aislados portadores de la BLEE blaCTX-M-15 se obtuvieron 26 transconjugantes, todas adquirieron genes acompañantes de las transferasas aac(3')-IIa y aac(6')-Ib, en cuanto a la talla molecular el 50% (13/26) adquirió un plásmido de >195 kpb y 46% (12/26) un plásmido de 195 kpb, mientras que de los 10 portadores de blaNDM-1 se obtuvieron 5 transconjugantes de los cuales 4 adquirieron un plásmido de 195 kpb. El análisis del RFLP de los plásmidos conjugativos permitió agruparlos en 8 perfiles de restricción de los cuales el perfil 4 fue el que agrupó a la mayoría de ellos, la similitud entre los 31 plásmidos fue del 88%. El grupo Inc al que pertenecieron los plásmidos fue IncF, de los cuales 5 plásmidos pertenecieron al subgrupo IncFIIA y 4 de estos fueron portadores de blaNDM-1. CONCLUSIONES La BLEE más frecuente fue blaCTX-M-15 y la carbapenemasa más frecuente fue blaNDM-1, ambas codificadas en su mayoría en plásmidos conjugativos de 195 kpb de la familia IncF acompañados de genes de resistencia a aminoglucósidos.

ESPECIES Y SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS DE CEPAS DE *Candida* spp. AISLADAS DE LA CAVIDAD BUCAL DE PACIENTES CON VIH DE PARAGUAY

Belén Gayoso¹, Margarita Samudio¹, Carolina Duré¹, Laura Alfonso¹, Idalina Franco¹, Alicia Pereira², Norma Fariña², Marcos Colmán³

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) - Universidad Nacional de Asunción (UNA), Departamento de Microbiología, San Lorenzo, Paraguay

(2) Laboratorio San Roque, Departamento de Microbiología, Asunción, Paraguay

(3) Facultad de Ciencias Químicas (UNA), San Lorenzo, Paraguay

Candida albicans es la levadura más aislada de la cavidad oral de personas con VIH. Sin embargo, el uso de antifúngicos ha incrementado el aislamiento de especies de *Candida* no *albicans* resistentes o con sensibilidad reducida a los antifúngicos utilizados habitualmente. El objetivo del estudio fue determinar las especies y sensibilidad a los antifúngicos de cepas de *Candida* spp. aisladas de la cavidad bucal de pacientes con VIH, que acudieron al Instituto de Medicina Tropical entre julio a diciembre de 2019. Las cepas se sembraron en Agar Cromogénico *Candida* (CONDA) para su identificación presuntiva. Las colonias verdes en el medio cromogénico se identificaron por PCR dúplex y las de otro color, con el sistema comercial VITEK®2. La susceptibilidad antifúngica de *C. albicans* se determinó por el método comercial VITEK®2, y de *C. no albicans* por el método de difusión en agar. De las 278 cepas estudiadas, se aisló con mayor frecuencia *C. albicans* (70,9 %), seguido de *C. tropicalis* (8,3 %) y *C. krusei* (5 %). Las cepas de *C. albicans* presentaron buena sensibilidad al fluconazol (93 %), flucitosina (97 %), anfotericina B (98 %) y equinocandinas (100 %), pero menor sensibilidad al voriconazol (87 %). Las cepas *C. no albicans* presentaron una sensibilidad baja al fluconazol (62 %) y muy buena al voriconazol (100 %). La portación oral de cepas resistentes a los agentes antifúngicos más utilizados podría llevar a fracasos terapéuticos en los individuos con VIH que desarrollen candidiasis oro-faríngea.

Financing: Financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), dentro del marco del Proyecto PINV15-919.

Identificación de carbapenemasas por inmunocromatografía en aislamientos clínicos de Enterobacterales durante agosto 2020- junio 2021 en un Laboratorio privado de Lima - Perú.

Luis Alvarado¹, Giancarlo Quiroz¹, Maritza Quiroz¹, William Castillo¹, Ronald Neyra¹, Flor Quedo¹, Luis Ramos¹
(1) Laboratorios Roe - Clínica San Felipe, Microbiología, Lima, Peru

La resistencia a los carbapenémicos es un problema de salud pública. En el Perú la información de los tipos de carbapenemasas circulantes en Enterobacterales es escasa. La primera carbapenemasa reportada fue KPC en 2013, NDM fue reportada el 2017, en 2018 el Instituto Nacional de Salud (INS) reportó la presencia de NDM, KPC e IMP en 83 cepa de los años 2013 al 2017; el año 2021 el INS reporta la presencia de NDM y KPC en 78 enterobacterales aislados durante el 2019 en 30 centros de salud del Perú, estos reportes utilizaron la identificación molecular para determinar el tipo de carbapenemasa. Los métodos moleculares no están disponibles en la mayoría de laboratorios, la identificación inmunocromatográfica de carbapenemasas tiene una alta sensibilidad y especificidad por lo que se planificó realizar este ensayo en aislamientos de Enterobacterales resistentes a carbapenémicos en muestras clínicas recibidas en un laboratorio en Lima, Perú durante el periodo agosto 2020 y junio 2021. Objetivos Identificar las carbapenemasas presentes en aislamientos clínicos de Enterobacterales en Lima, Perú durante el periodo de estudio. Metodología Muestras referidas de hospitales, clínicas y atenciones particulares de la ciudad de Lima. La identificación bacteriana y sensibilidad antibiótica fue determinada por el sistema Vitek2. La detección de producción de carbapenemasas se realizó por Blue Carba Test (ANLIS-Malbran). La identificación fenotípica del tipo carbapenemasa (Metalobetalactamasas y Serincarbapenemasa) se realizó con discos EDTA y ácido-fenilborónico (APB) respectivamente y el ensayo inmunocromatográfico múltiple, para la identificación de carbapenemasa se realizó con el test RESIST-5 O.K.N.V.I. CorisBioconcept, que utiliza anticuerpos monoclonales para reconocer específicamente enzimas carbapenemasas NDM, VIM, IMP, KPC y OXA-48. Resultados: Las muestras clínicas de donde provienen los aislamientos fueron, aspirado traqueal 65 (40.1%), orina 52 (32.1%), hemocultivo 23 (14.2%), herida 10 (6.2%), tejido 9 (5.6%), CVC 2 (1.2%), líquido pleural 1 (0.6%). Se recuperó 162 Enterobacterales resistentes/intermedio a algún carbapenem (ertapenem, meropenem, imipenem), todas positivas al Blue Carba Test; *Klebsiella pneumoniae* 125 (77.2%), *Escherichia coli* 24 (14.8%), Complejo *Enterobacter cloacae* 4 (2.5%), *Providencia rettgeri* 3 (1.9%), *Citrobacter freundii* 2 (1.2%), *Proteus mirabilis* 2 (1.2%), *Klebsiella oxytoca* 1 (0.6%) y *Providencia stuartii* 1 (0.6%). De estas cepas, 148 (91.4%) se clasificaron como metalobetalactamasas por mostrar sinergia con EDTA, 12 (7.4%) se clasificó como serincarbapenemasas por mostrar sinergia con APB y 2 (1.2%) no presentó sinergia con EDTA ni APB. La inmunocromatografía identificó 146 (90.1%) como NDM, 12 (7.4%) como KPC, 2 (1.2%) como IMP y 2 (1.2%) como OXA-48. En *Klebsiella pneumoniae* se identificó 114 NDM, 11 KPC; *Escherichia coli* 22 NDM, 1 IMP, 1 OXA-48; Complejo *Enterobacter cloacae* 3 NDM, 1 IMP; *Providencia rettgeri* 3 NDM; *Citrobacter freundii* 1 KPC, 1 OXA-48; *Proteus mirabilis* 2 NDM; *Klebsiella oxytoca* 1 NDM; *Providencia stuartii* 1 NDM. Conclusiones: *Klebsiella pneumoniae* es la principal especie donde se detecta carbapenemasas. La identificación inmunocromatográfica de carbapenemasas en Enterobacterales muestra la presencia de 4 tipos de carbapenemasas, siendo NDM la predominante (90.1%) seguida de KPC (7.4%), IMP (1.2%) y OXA-48 (1.2%). No se detectó ningún caso de VIM.

Financing: El resumen se hizo sin financiamiento externo. Datos de Laboratorio.

Whole-genome sequencing and phylogenetic analysis in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* resistant to first- and second-line drugs

Gabriel Morey-León^{1,3}, Derly Andrade-Molina^{2,3}, Juan Carlos Fernández-Cadena², Luisa Berná-Zanotta^{4,5}, Carlos Robello-Porto^{4,5}

(1) Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Médicas, Guayaquil, Ecuador

(2) Universidad Espíritu Santo, Laboratorio de Ciencias Ómicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Samborondón, Ecuador

(3) Universidad Espíritu Santo, Laboratorio de Ciencias Ómicas, Samborondón, Ecuador

(4) Institut Pasteur de Montevideo., Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno, Unidad de Biología Molecular, Montevideo, Uruguay

(5) Universidad de la República., Sección Biomatemática - Unidad de Genómica Evolutiva, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay

Background: Tuberculosis is a potentially serious infectious due to increased cases of multi (MDR) and extreme drug resistance (XDR) worldwide, which remains the challenge for tuberculosis control. In Ecuador, genomic studies related to lineage and resistance characterization of *Mycobacterium tuberculosis* by sequencing are limited. This study assesses the characterization of lineage and molecular resistance profile in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* through whole-genome sequencing (WGS). Methods: DNA was extracted using the CTAB method from 24 isolates resistant, microbial characterized previously. Genomes were sequenced on the MiniSeq platform with High Output Reagent Kit (2 x 150 bp) following tagmentation-based library according to the manufacturer's instructions. The sequencing reads were mapped to the *M. tuberculosis* H37Rv reference genome, and associated resistance and lineage mutations were identified by TB-Profiler. Results: From 24 microbiological MDR isolates, 2 pre-MDR, 16 MDR, 4 pre-XDR, and 2 XDR were identified by mutation present in associated resistance gene; the principal family was LAM (53,88%), and clades X, T and S were identified. In pre-XDR and XDR isolates the LAM family (66,6%) and X-clade (33,33%) were distributed. 105 associated mutations were identified being the more frequent the missense mutation (82.86%) in gene *rpoB* (23.81%), *katG* (18.10%), *embB* (14.29%), and *pncA* (12.38%) associated with resistance to rifampicin, isoniazid, ethambutol, and pyrazinamide, respectively. 12.38% of mutations were in a gene related to second-line drugs resistance, 46.15% in non-coding, 30.77% in the frameshift, and 23.08% in missense regions. Conclusion: This study highlights the necessity to apply WGS to characterize mutations, that can cause serious problems generating MDR and XDR strains, and lineage as a part of routine surveillance programs in Ecuador, due to the presence of different lineages circulating, and mutations associated with first and second-line antibiotic resistance genes between tuberculosis patients.

Presencia del plasmidio pESI-like en cepas chilenas de *Salmonella* Infantis

CECILIA TORO UGALDE¹, Juan Carlos Salazar¹, Cristobal Romero², Génesis Pineda², Tannia Quiroz², Roberto Vidal¹, María Esther Saldías³

(1) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(3) Servicio Agrícola y Ganadero SAG, Departamento Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias, Unidad Bacteriología Pecuaria, Santiago, Chile

Salmonella enterica serotipo Infantis se ha convertido en uno de los serotipos más prevalentes en carnes de ave y cerdo a nivel mundial. Consecuentemente, se ha observado un aumento en la incidencia de salmonelosis por este serotipo en la población mundial. A lo anterior, se suma la emergencia de cepas multirresistentes, cuyos determinantes genéticos están principalmente asociados a un megaplasmidio conjugativo específico de *S. Infantis*, denominado pESI. Se han descrito numerosas variantes pESI-like, de tamaños distintos y con diferentes combinatorias de genes de resistencia en países de Europa, en Estados Unidos y en Latinoamérica, Perú y Ecuador. La situación no es distinta en Chile, puesto que también es posible constatar un aumento en la prevalencia de *S. Infantis*, especialmente en aislamientos desde aves de corral y desde carne de ave obtenidas desde supermercados. En nuestro laboratorio caracterizamos 60 cepas de *S. Infantis* que circulan en predios avícolas en dos regiones de Chile. Mediante PFGE pudimos determinar la presencia de dos cluster, con una similitud genética del 96,5% entre ellos y por método Kirby-Bauer detectamos que el 100% de las cepas era resistente a 3 o más antibióticos de los 11 estudiados, incluyendo ácido nalidíxico, tetraciclina y estreptomina. Mediante PCR convencional se determinó la presencia de algunos de los genes de resistencia que han mostrado una alta prevalencia a nivel mundial, entre ellos tetA, aadA1, dfrA14, floR y blaCTX-M grupo 9. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de plasmidios pESI-like en estas cepas chilenas. Para ello, se secuenciaron 3 cepas representativas de los grupos fenotípicos mayoritarios; se confirmó bioinformáticamente el perfil de susceptibilidad a antibióticos por la detección de los genes de resistencia mediante el software RESFinder 4.0. Además, mediante BlastN se compararon las secuencias con una de las variantes descritas del plasmidio pESI, pFSIS1502916 (N° de Acceso CP016409.1; 322 Mb). El análisis in silico mostró que las tres cepas presentan un megaplasmidio, de aproximadamente 288, 293 y 318 Mb cada uno, pertenecientes al grupo de incompatibilidad IncFIB, cuya principal diferencia radica en el contenido de genes de resistencia. Estos resultados, que deben ser confirmados mediante el aislamiento y caracterización del elemento genético, permiten sugerir el potencial que posee el plasmidio en el intercambio genético y transferencia de genes de resistencia en las cepas circulantes de *S. Infantis* en nuestro país.

SENSIBILIDAD A FOSFOMICINA EN AISLAMIENTOS DE *Pseudomonas aeruginosa* PRODUCTORA DE METALOCARBAPENEMASAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS, LIMA-PERÚ

Roky Giovanni Champi Merino^{1,2,3}, José Luis Huamán Menacho^{2,4}, Sharon Rocío Vásquez Lévano², Luis Moisés Pelayo Rincón²

(1) Hospital Nacional Hipólito Unanue., Departamento de Patología Clínica. Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular., Lima, Perú

(2) Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Tecnología Médica, Lima, Perú

(3) Sociedad Científica Peruana de Microbiología, Lima, Perú

(4) Sociedad Científica de Estudiantes de Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, Lima, Perú

En los últimos años el uso creciente de antimicrobianos de amplio espectro en pacientes complicados clínicamente fue seleccionando aislamientos bacterianos multirresistentes, sobre todo en instituciones de salud como los hospitales. *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos es considerado como patógeno de prioridad crítica para desarrollar nuevos antibióticos, y son un problema importante de salud pública, siendo los carbapenémicos una de las últimas alternativas de tratamiento. En estudios en el Perú, se han descrito la confirmación genotípica de carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa*, con presencia de metalocarbapenemasas, siendo IMP predominante y en menor frecuencia VIM y GES. La realización de estudios de vigilancia epidemiológica de resistencia en antibióticos como fosfomicina son necesarios para identificar alternativas de uso terapéutico en nuestro medio. **Objetivo:** Determinar la sensibilidad a fosfomicina en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalocarbapenemasas de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue. **Metodología:** Estudio descriptivo, prospectivo de corte transversal. A partir de 126 cepas de *P. aeruginosa* procedentes de muestras clínicas, se recolectaron 70 cepas resistentes a carbapenémicos durante el año 2019 en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. Se excluyeron los aislamientos duplicados. La identificación bacteriana y el estudio de sensibilidad se realizaron según protocolos normalizados de laboratorio. La resistencia a carbapenémicos se evaluó por el método de disco difusión y la presencia de carbapenemasas por identificación fenotípica con el test de inactivación de carbapenemasa mCIM + EDTA; y la sensibilidad a fosfomicina se realizó por el método estándar de referencia de dilución en agar Mueller Hinton con 25 µg/mL de glucosa-6-fosfato, según los criterios del CLSI. Se ensayaron cuatro concentraciones de fosfomicina por dilución en agar: 32 µg/ml, 64 µg/ml, 128 µg/ml y 256 µg/ml. Se identificaron aspectos demográficos de los pacientes, el análisis de datos se realizó con el programa Whonet 5,6. **Resultados:** En cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de muestras clínicas de pacientes hospitalizados, mediante el método de disco difusión se identificaron 70 cepas resistentes a carbapenémicos, de las cuales el 52,8% (37/70) se detectaron como productoras de metalocarbapenemasas (MBL). En la evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) mediante dilución en agar se probaron las cepas productoras de MBL frente a fosfomicina, presentando el 35,1% (13/37) una CIM < 32 µg/ml, 24,3% (9/37) presentaron CIM de 64 µg/ml, 8,1% (3/37) presentaron CIM de 128 µg/ml y 32,4% (12/37) presentaron una CIM de >256 µg/ml. Fosfomicina podría ser una alternativa en el tratamiento de infecciones por *Pseudomonas* multirresistentes, siendo necesario monitoreo de la resistencia, para ampliar las opciones terapéuticas, e investigar combinaciones con las distintas familias de antimicrobianos. La edad promedio de los pacientes con aislamiento de metalocarbapenemasas fue 54,8±17 años, el sexo más frecuente fue masculino 70%, siendo la muestra clínica más frecuente las de origen respiratorio 59%, urinario 22% y otros 19%. **Conclusiones:** El 67,6% de aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalocarbapenemasa presentaron CIM < 128 µg/ml frente a fosfomicina, mostrando ser una opción terapéutica alternativa para uso en combinación con otros antimicrobianos, con probable utilidad en agentes bacterianos multirresistentes.

Financing: Autofinanciado

Evaluación del perfil fenotípico de resistencia antimicrobiana en cepas multirresistentes y productoras de BLEE de *Morganella morganii* aisladas de pacientes hospitalizados en un hospital del sur de Brasil

Luana Carvalho Silva¹, Matheus Silva Sanches¹, Victor Hugo Montini¹, Bruno Henrique Dias de Oliva¹, Renata Katsuko Takayama Kobayashi², Eliana Carolina Vespero³, Sergio Paulo Dejato da Rocha¹

(1) Laboratório de Bacteriologia, Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, km 380 - Campus Universitário, PR, 86057-970, Londrina, Brasil

(2) Núcleo Integrado de Pesquisa 3 (NIP3), Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, km 380 - Campus Universitário, PR, 86057-970, Londrina, Brasil

(3) Laboratório de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Av. Robert Koch, 60 - Operária, Londrina - PR, 86038-440, Londrina, Brasil

Morganella morganii es una enterobacteria perteneciente a la tribu Proteeae, junto con bacterias del género *Proteus* y *Providencia*. El género *Morganella* tiene una sola especie, que contiene dos subespecies conocidas, *Morganella morganii morganii* y *Morganella morganii siboni*, que pueden ser parte de la microbiota intestinal o ambiental normal, y también pueden causar diversas patologías en pacientes hospitalizados y no hospitalizados. Así, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la resistencia antimicrobiana y la presencia de genes relacionados con la producción de enzimas β -lactamasas, de 32 aislamientos de *M. morganii* de aislamientos urinarios, fragmentos de tejido, fragmentos óseos, frotis ocular, aspirado bronquial y secreción traqueal, en un hospital de Londrina / PR, Brasil. Los aislamientos se sometieron a análisis de perfil de resistencia fenotípica utilizando el sistema Vitek 2®. Se ensayaron antimicrobianos pertenecientes a la 1ª, 2ª, 3ª y 4ª generación de cefalosporinas, quinolonas, penicilinas, aminoglucósidos, monobactamas, sulfonamidas y carbapenémicos. Los aislamientos que mostraron resistencia a cefalosporinas de 3ra y 4ta generación se ensayaron mediante la técnica de disco combinado, confirmando fenotípicamente la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y posterior reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para los grupos CTX -M-1, 2, 8, 9 y 25. Los resultados mostraron que 8 (25%) de los aislados eran resistentes a Amikacina, 29 (93,75%) a Gentamicina, 15 (46,87%) a Aztreonam, 13 (43,75%) a Ceftazidima, 31 (96,87%) a Ceftriaxona, 28 (87,5%) a Cefepima, 4 (12,5%) a Piperacilina + Tazobactam, 32 (100%) a Ciprofloxacina, 19 (59,37%) a Norfloxacina, 17 (56,25%) a Ácido Nalidíxico y 29 (93,75%) a Sulfametoxazol + Trimetoprim, ninguno de los aislados mostró resistencia a los Carbapenémicos. En cuanto al grupo CTX-M, 10 (31,25%) aislamientos mostraron la presencia del grupo CTX-M-1, 21 (65,62%) a CTX-M-2 y 2 (6,25%) a CTX-M-9. No se detectó la presencia de CTX-M-8 o 25 en ningún aislado. Los 32 aislamientos evaluados mostraron resistencia a al menos un antimicrobiano de la 3ª y 4ª generación de cefalosporinas. De los antimicrobianos evaluados, los que mostraron mayor actividad en nuestros aislados fueron Carbapenémicos y la asociación de Piperacilina y Tazobactam. En cuanto a los grupos CTX-M, el grupo más prevalente encontrado fue el CTX-M-2. Se concluye que las infecciones por *M. morganii* en un hospital del sur de Brasil son preocupantes, dada la diversidad de grupos CTX-M detectados en nuestro estudio. Por tanto, es fundamental que el uso de antimicrobianos en el ámbito hospitalario sea racional, con el objetivo de no seleccionar cepas multirresistentes y portadoras de genes BLEE.

Financing: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Resistencia antibiótica en *Escherichia coli* aislada de un ambiente acuático asociado con aguas residuales de la ciudad de Popayán, Cauca, Colombia.

Nathaly Perez Muñoz¹, Clara Inés Giraldo Aristizábal¹, David Arturo Montero Forero²

(1) Universidad del Cauca, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, Carrera 2A N° 3N-111, Popayán, Colombia

(2) Universidad de Chile, Programa Disciplinario de Inmunología, Programa de Microbiología y Micología, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago de Chile, Chile

La resistencia bacteriana es una de las mayores amenazas a las que se enfrenta actualmente la humanidad, la cual es resultado del uso inadecuado de antibióticos en la clínica, el sector agroindustrial y doméstico. El surgimiento de bacterias patógenas con resistencia a múltiples antibióticos ha reducido el número de tratamientos disponibles contra infecciones en humanos y animales, aumentando las tasas de mortalidad, afectando la salud pública y la producción animal. El vertimiento de trazas de antibióticos o de bacterias resistentes a cuerpos de agua desequilibran la microbiota de estos ambientes y son factores de riesgo para la generación de resistencias en los sitios de descarga, especialmente en bacterias patógenas para el ser humano. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de cepas de *Escherichia coli* resistentes a antibióticos en un ambiente acuático asociado con aguas residuales de la ciudad de Popayán. Para ello, se emplearon los métodos de filtración por membrana y siembra en agar EMB para el recuento de microorganismos, posteriormente siembra por agotamiento en agar sangre y MacConkey para obtener aislamientos puros, seguidos de baterías de pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias y finalmente antibiogramas automatizados en el equipo Vitek 2 de Biomereux para identificar los perfiles de resistencia. En cuanto los puntos de muestreo, se determinaron 3 puntos sobre un tramo del Río Molino, el cual recibe un vertimiento de aguas residuales a cielo abierto por medio de una tubería; uno de los puntos correspondió a dicha tubería y los otros dos, aguas arriba y aguas abajo del vertimiento. Como resultados, se obtuvo que *E. coli* fue el aislamiento medioambiental más frecuente ($n=19$), que presentó la mayor cantidad de resistencias frente a diversos antibióticos analizados, como Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Cefalotina, Cefuroxima, Cefuroxima Axetil, entre otros. Además, se hallaron 3 aislamientos de *E. coli* productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). También los resultados del índice de multiresistencia a los antibióticos (MAR) arrojaron valores que van del 0,143 al 0,90, encontrándose los valores más altos en las *E. coli* aisladas en el punto del vertimiento. Como resultados adicionales se obtuvieron otras especies bacterianas como *Enterobacter cloacae* ($n=5$), *Enterobacter asburiae* ($n=3$), *Acinetobacter baumannii* ($n=1$), etc., provenientes en su mayoría del vertimiento (13 aislamientos), seguido por las aguas abajo (10 aislamientos) y finalmente aguas arriba (7 aislamientos). En conjunto estos resultados demuestran la presencia de bacterias multiresistentes en este tramo del Río Molino, las cuales sugieren que existe una fuente de alto riesgo de contaminación biológica en el sitio en mención, que parece estar relacionada con un ambiente hospitalario o contiene residuos biológicos humanos o trazas de antibióticos.

High rate of polymyxin resistance on dairy farms and detection of *mcr-1* gene in *Escherichia coli* isolated from calves

Taila Alves¹, Vinícius Rosa¹, Gustavo Lara², Márcio Ribeiro², Domingos Leite¹

(1) Universidade Estadual de Campinas, Genética, Evolução, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biologia, Rua Monteiro Lobato, 255, Campinas, Brazil

(2) Universidade Estadual Paulista, Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, R. Dr. Valter Maurício Corrêa, s/n, Botucatu, Brazil

Escherichia coli strains are naturally susceptible to polymyxins. Usually, frequencies of polymyxin resistance in *E. coli* associated with chromosomal mutations are low (0.2–0.6%). A high rate of it suggests plasmid-mediated colistin resistance as a *mcr* genes found for the first time in China in 2016. Since the description of the first *mcr-1* gene, several countries have banned colistin use as a growth promoter in animal production, including Brazil. Here we report polymyxin-resistant *E. coli* isolated from flies (Diptera: Muscomorpha) and animals (bovine, equine, canine and, sheep) cohabitants on two dairy farms (Botucatu, São Paulo, Brazil) in 2015. We isolated 877 *E. coli* from the external surface of flies and healthy animals' feces (strains from farm A: 135 from 57 flies, 284 from 58 calves, 240 from 48 cows, 25 from six dogs, 15 from three mules, ten from two mares; strains from farm B: 63 from 37 flies, 50 from ten calves, 40 from eight cows, ten from two lambs, five from one ram). Screening of polymyxin-resistant *E. coli* was performed using MacConkey agar with polymyxin B (2 µg/mL). The resistant strains were recultured onto agar two more times to remove false resistant strains. We found a high frequency of polymyxin-resistant isolates from farm animals 40.9% (359/877). Of these, 285 resistant strains from farm A (flies, 35.5%; calves, 44%; cows, 40.8%; dogs, and mares 40%), and 74 strains from farm B (cows, 65%; calves, 52%; lambs, 40%; flies, 28.6%). Fisher's exact test showed no association between polymyxin resistance and multidrug resistance strains (resistance to ≥ 3 antimicrobial classes; farm A, 60 strains from flies, 25 from calves, six from dogs; farm B, two from flies, seven from calves, four from cows). We investigated *mcr* genes (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, and *mcr-5*) using PCR, and five *E. coli* from calves (farm B) showed *mcr-1* gene. Sanger sequencing and conjugation assay were performed for gene confirmation (GenBank accession MT832366). Inc/replicons groups detected by PCR-based replicon typing (PBRT) were N, FIA, P, K, F (four strains), and N, FIA, FIB, P, K, F (one strain). All five *mcr-1*-positive *E. coli* were assigned to phylogenetic group B2 and showed fingerprints more than 80% similar assayed by Pulsed-field gel electrophoresis using XbaI restriction enzyme. The Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) for polymyxin B on *mcr-1*-positive *E. coli* using broth microdilution were 4 µg/mL (two strains), and 8 µg/mL (three strains). Despite the prohibition of polymyxin use as a growth promoter, therapeutic stewardship is allowed in Brazil. Polymyxin use in dairy cattle is uncommon, so our data indicates a probable selection of polymyxin-resistant strains related to environmental pressure.

Financing: FAPESP (2015/15425-2).

RESISTENCIA A OXIMINO-CEFALOSPORINAS Y OTROS ANTIBIÓTICOS DE IMPORTANCIA CRÍTICA EN CEPAS DE *Escherichia coli* PROCEDENTES DE HISOPADOS RECTALES CANINOS.

Silvana D'Agosto², Virginia García - Fulgueiras¹, Nadia Coppola¹, Inés Vidal², Rodrigo Puentes², Rafael Vignoli¹

(1) Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

(2) Instituto de Patobiología, Departamento de Ciencias Microbiológicas, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay

El sobreuso de antibióticos beta-lactámicos ha promovido la diseminación de mecanismos de resistencia a los mismos como, beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE), cefalosporinas de clase C (AmpC) y carbapenemasas (CP) en aislamientos de origen humano y animales. A nivel mundial, se describen prevalencias de *Escherichia coli* (*E. coli*) resistentes a oximino-cefalosporinas en caninos entre 1%-55% asociado a BLEE, AmpC o CP. Así mismo, se ha documentado en esta población, la presencia de *E. coli* resistente a antibióticos de reserva como colistina y fosfomicina. La diseminación de estos microorganismos o los genes de resistencia entre animales de compañía y humanos es un problema de creciente preocupación. En base a lo señalado, nuestro objetivo fue caracterizar los mecanismos de resistencia a oximino-cefalosporinas, colistina y fosfomicina en cepas de *E. coli* aisladas de hisopados rectales de caninos. Se estudiaron 200 caninos ("Facultad de Veterinaria, Uruguay", 2019). Las muestras se sembraron en agar MacConkey Lactosa (1 mg/L de ceftriaxona). La identificación bacteriana se realizó mediante MALDI-TOF y la susceptibilidad a antibióticos se determinó mediante disco difusión (EUCAST, CLSI). A los aislamientos de *E. coli* crecidos se les realizó screening en placa (3 mg/L) para colistina. De acuerdo a los resultados de susceptibilidad se buscaron genes de resistencia a oximino-cefalosporinas, fosfomicina y colistina mediante PCR y secuenciación. Se detectó resistencia a oximino-cefalosporinas en 31/200 caninos (15,5%). Todos los aislamientos fueron resistentes a ceftriaxona (31/31), seguido de amoxicilina-clavulánico (19/31), cefepime (16/31), ceftazidime (14/31), cefoxitin (10/31), meropenem (3/31) e imipenem (2/31), adicionalmente se observó resistencia a estreptomina (20/31), gentamicina (12/31), enrofloxacin (9/31), fosfomicina (2/31) y colistina (1). No se observó resistencia a amikacina. La mayoría de los aislamientos presentaron fenotipo de BLEE (n=23), seguido por AmpC (n=5) y CP (n=2), un aislamiento presentó un fenotipo combinado BLEE/AmpC. Los genes caracterizados fueron: blaCTX-M-2 (n=12), blaCTX-M-15 (n=7), blaCMY-2 (n=6), blaCTX-M-8 (n=2), blaCTX-M-14 (n=3) blaCTX-M-55 (n=2) y blaNDM-1 (n=2). Se detectó coproducción de enzimas en 4 aislamientos (CTX-M-14/-15, CTX-M-2/CMY-2, CTX-M-8/-15). Se detectó la presencia de fosA3 en dos aislamientos (asociados a blaCTX-M-55 y blaCTX-M-14) y mcr-1 en uno, asociado a blaCMY-2. Este es el primer estudio que evidencia la circulación de *E. coli* productoras de BLEE, AmpC, CP, fosA3 y mcr-1 recuperadas de heces caninas en Uruguay. Se encontraron varios mecanismos de resistencias a oximino-cefalosporinas, y a resistencias acompañantes, que ya habían sido detectados a nivel humano. Las BLEE presentaron alta prevalencia de CTXM-2. La detección de resistencia a carbapenemes, colistina y fosfomicina es preocupante, ya que no son antibióticos utilizados en caninos en nuestro país y eventualmente podría traducir una antropozoonosis. De confirmarse la diseminación bidireccional de genes de resistencia/microorganismos implicaría un riesgo para la salud pública. Palabras clave: *Escherichia coli*, CTX-M, CMY-2, NDM-1, mcr-1, fosA3, caninos.

Integrones de clase 1 y resistencia a sulfametoxazol en *Escherichia coli* uropatógeno

Eliana de los Santos¹, Magela Laviña¹, María Poey¹

(1) Universidad de la República, Sección Fisiología y Genética Bacterianas, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay

El incremento de las bacterias patógenas multirresistentes es un tema de preocupación en salud. Los integrones de clase 1 (Int1) son elementos genéticos que contribuyen al problema, pues portan distintos genes de resistencia a antibióticos en su región variable, frecuentemente *dfrA* (de resistencia a trimetoprim) y, en su región conservada, el gen *sul1* (de resistencia a sulfamidas, e.g. sulfametoxazol). Estos antibióticos actúan bloqueando dos enzimas (FolP y FolaA) de una misma vía metabólica, la síntesis del ácido fólico. En la clínica, la fórmula combinada de trimetoprim (TMP) y sulfametoxazol (SMX), denominada co-trimoxazol (SXT), es muy usada. Se estudió una colección de 230 cepas de *Escherichia coli* uropatógeno (UPEC) con dos objetivos: i) analizar su fenotipo de resistencia a SMX, TMP y SXT, y ii) determinar las bases genéticas de la resistencia a SMX. Esta colección había sido previamente caracterizada para la presencia de Int1 por el clásico criterio de poseer el gen para su integrasa, *intl1*, habiéndose encontrado 50 cepas *intl1+*. Se evaluó la susceptibilidad a los tres antifolatos mediante crecimiento en medio sólido con los antibióticos incorporados, según se puso a punto en el laboratorio. Previamente, las cepas de la colección habían sido analizadas para su susceptibilidad a SXT por el método de disco-difusión. Dichos resultados se correlacionaron con los obtenidos ahora y también se analizó su susceptibilidad a SMX y TMP, por separado. Se relevó, por PCR, la presencia de los genes *sul* 1, 2 y 3, principales responsables de la resistencia a sulfamidas en enterobacterias. Éstos codifican para enzimas homólogas a FolP. En las cepas SMXR carentes de estos genes se amplificó, secuenció y clonó el gen *folP*, y se analizó el fenotipo conferido de susceptibilidad a SMX en contexto *E. coli* K12. Los resultados fenotípicos de susceptibilidad a SXT evidenciaron una buena correlación entre ambos métodos antes mencionados. La prevalencia de las resistencias a SMX, TMP y SXT fue de 54%, 45% y 41%, respectivamente. Todas las cepas catalogadas como *Int1+* por tener el gen *intl1* fueron SMXR: la mayoría tuvieron *sul1*, solo o con *sul2* o *sul3*, y otras tuvieron sólo *sul2*. Hubo 16 cepas *sul1+ intl1-*, y en todas éstas se buscaron y se encontraron secuencias típicas de Int1 (e.g. promotor Pc). Es decir, en ningún caso se detectó el gen *sul1* en forma independiente del Int1. También hubo tres cepas SMXR que carecieron de genes *sul*. Se analizó el gen *folP* de las mismas, buscando alelos mutantes que confirieran la resistencia a SMX, pero esta posibilidad fue descartada, por lo que se deduce que existirían otros mecanismos adicionales de resistencia aún no conocidos. En conclusión, proponemos al gen *sul1* como marcador de la presencia de Int1, al igual que el marcador *intl1*. Siguiendo este criterio, la prevalencia del Int1 en nuestra colección se incrementó de un 22% (*intl1+*) a un 28% (*intl1+* y/o *sul1+*).

Financing: Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA)

Evolución de la sensibilidad social a la resistencia a los antibióticos en el proyecto MicroMundo

Carmina Rodríguez Fernández¹, Félix Andueza Leal², Penélope Higuera Maqueda¹, Jose Antonio Valdés González¹, Guillermo Rodríguez González¹

(1) Universidad Complutense de Madrid (España), Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Plaza de Ramon y Cajal s/n. 28040- Madrid, MADRID, España

(2) Universidad Central del Ecuador, Departamento de Microbiología, Escuela de Ingeniería Ambiental, Av. Universitaria, Quito 170129, Ecuador

Citius, altius, fortius. Este lema olímpico bien podría reflejar el acuciante problema de la emergencia y selección de cepas de bacterias patógenas multirresistentes y, por tanto, la ineficacia de los tratamientos antimicrobianos. El abuso de los antibióticos, en la práctica clínica humana y en la veterinaria, no solo ha estimulado la aparición de resistencias por uso indiscriminado de los mismos; sino que éstas se diseminan con rapidez debido a la enorme capacidad de las bacterias para transmitir la información genética. Además, el mundo hipercomunicado del siglo XXI ha globalizado este problema. Nuevos antibióticos, más divulgación científica, mayor concienciación de la ciudadanía sobre el problema terapéutico de las multirresistencias... pero tomando el pulso a la opinión pública: ¿qué sabemos de los antibióticos, las resistencias y las llamadas “súper-bacterias”? ¿Está la sociedad sensibilizada ante dicho problema? El Proyecto de Aprendizaje Servicio MicroMundo@Spain tiene como objetivo esencial acercar la cultura científica y la investigación biomédica a jóvenes estudiantes a fin de fomentar vocaciones científicas, mediante actividades experimentales dirigidas al aislamiento de microorganismos del suelo productores de nuevos antibióticos. Y concienciar al público, en general, sobre el uso y abuso de los antibióticos desde la perspectiva global One Health. Dentro de las actividades de dicho proyecto, hemos tomado el pulso a la opinión pública con la reedición de la “Encuesta sobre el uso y abuso de los antibióticos”, a fin de comparar cómo ha evolucionado la sensibilidad social ante este grave problema en lo que podríamos considerar tiempo “pre-Covid” (2019-20) y “Covid” o “post-Covid” (2020-21). Para ello se ha entrevistado a más de 2 000 personas a través de las redes sociales en España (3 243 en 2019, 2 088 en 2021). Los resultados se han agrupado por edad (menores de 20 años, entre 20 y 40, entre 40 y 60, y mayores de 60 años). En la nueva edición (2020-21) se ha extendido la encuesta a los hispanohablantes de otros países (1700 respuestas recibidas, la mayor parte desde Hispanoamérica). También se ha difundido en inglés, francés, alemán y portugués, a otros países. La encuesta permite seguir el conocimiento sobre las resistencias a los antibióticos en España y Latinoamérica, conocer su uso real por la población, y evaluar el impacto de la divulgación que realizan diversas Instituciones. Los análisis muestran pequeñas variaciones en este periodo pre-Covid y post-Covid. La muestra recogida fuera de España refleja que la población está menos concienciada con este problema. La población más joven (menores de 20 años) sigue siendo la que tiene mayor desconocimiento. Resumiendo, nuestra sociedad necesita mejorar su cultura sobre antibióticos. Es preciso diseñar campañas de divulgación y concienciación más eficaces. La red MicroMundo contribuye activamente desde la Universidad.

FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA Y PERFIL DE RESISTENCIA DE *Staphylococcus aureus* DE AISLADOS CLÍNICOS

ABDIEL JESÚS FLORES TAPIA¹, LIZELDI BERNARDINO VARO¹, CONSUELO TOVAR TORRES¹, MARGARITA PINEDA LÓPEZ¹, **OSCAR RODOLFO RODAS SUÁREZ¹**

(1) ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, IPN, CIUDAD DE MÉXICO, CP 11340.

Staphylococcus aureus forma parte del microbiota normal del ser humano, el cual habita principalmente en el epitelio escamoso húmedo de las fosas nasales anteriores, sin embargo, pueden poner en peligro la vida del hospedero si este se encuentra inmunológicamente comprometido o es víctima de alguna infección asociada a la atención de la salud (IAAS). Entre las especies patógenas causales de IAAS con mayor resistencia y más frecuentes a nivel mundial encontramos al grupo ESKAPE, nombrado así por la primera letra de cada especie (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. eruginosa* y especies de la familia Enterobacteriaceae). *S. aureus* es uno de los más vigilados epidemiológicamente hablando, ya que, adquiere con gran velocidad diferentes estrategias para sobrevivir ante los tratamientos farmacológicos, se ha llegado a pensar que probablemente una de las principales estrategias de resistencia se debe a la capacidad para formar biopelícula. Se probaron dos técnicas para evaluar la producción de la biopelículas, el método de Rojo Congo (Freeman et al., 1989) y el método de Cristal Violeta (Peña y Uffo, 2013), observándose que algunas cepas altas productoras de biopelícula por el método de rojo Congo llegaron a presentar una baja actividad por el método de Cristal Violeta. Se evaluó la susceptibilidad a antimicrobianos con base en las normas publicadas por el CLSI (2020), las cepas altas formadoras de biopelícula presentaron resistencia hacia la Penicilina y la Eritromicina, además de ello, se observó que aquellas cepas bajas productoras de biopelícula presentaban un mayor índice de resistencia farmacológica en comparación a las altas productoras, dando a pensar que la formación de biopelícula no es el principal mecanismo de resistencia a antibióticos si no que existen otros mecanismos que no fueron analizados en el presente trabajo. La presencia de biopelícula forma parte de un conjunto de mecanismos que tiene como objetivo la supervivencia bacteriana, ante la presencia de antibióticos, lo que ha dado lugar a estudios cada vez más específicos.

PRIMER REPORTE DE AISLAMIENTO DE *Klebsiella pneumoniae* CON DOBLE CARBAPENEMASA Y RESISTENCIA A COLISTINA EN PACIENTE CON COVID-19, LIMA-PERÚ

Roky Giovanni Champi-Merino^{1,3}, Johnny Hurtado-Vilcatoma¹, Elizet Sierra-Chávez¹, Mariluz Milagros Salas Acosta², Flor de María Charca Rodríguez¹, Boris Gargate Loli¹, Gladys Jannet Quispe Marroquín¹

(1) Hospital Nacional Hipólito Unanue, Patología Clínica, Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular, Lima, Perú

(2) Hospital Nacional Hipólito Unanue, Departamento de Neumología, Lima, Perú

(3) Universidad Nacional Federico Villarreal, Tecnología Médica, Lima, Perú

Con el uso progresivo de antimicrobianos de amplio espectro en pacientes complicados clínicamente durante los últimos meses de pandemia COVID-19, surgieron aislamientos bacterianos multidrogoresistentes (MDR) en pacientes hospitalizados. Los Enterobacterales resistentes a carbapenémicos están considerados en un nivel de riesgo alto, y son un problema importante de salud pública, siendo los carbapenémicos y la colistina una última opción de tratamiento. A inicios del 2021, Pasteran y colaboradores del INEI-ANLIS-Malbrán confirmaron la emergencia de Enterobacterales productores de combinaciones de carbapenemasas en Argentina. Un estudio previo de revisión sistemática en el Perú, describe la confirmación genotípica de carbapenemasas en Enterobacterales y gram negativos no fermentadores, con carbapenemasa NDM como predominante y en menor frecuencia KPC e IMP, siendo *Klebsiella pneumoniae* (KPN) la especie más frecuente que presenta estas enzimas. Según el mapa microbiológico de nuestra institución durante el 2020 más del 20% de Enterobacterales presento resistencia a carbapenémicos. En el presente reporte describimos la co-expresión de dos carbapenemasas y resistencia a colistina en un aislamiento de KPN de un paciente hospitalizado con diagnóstico de COVID-19. Los métodos fenotípicos utilizados para evaluar la sensibilidad a carbapenémicos incluyeron cultivo en CHROMagar™ Acinetobacter MDR, sensibilidad por disco difusión, microdilución, Test Blue Carba, fenotipado con colocación estratégica de discos y confirmación por inmuno-cromatografía de flujo lateral RESIST-5 O.O.K.N.V. Coris® según recomendaciones del LNR-ANLIS-Malbrán (<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/05/Alerta-epidemiol%C3%B3gica-dobles-productores-de-carbapenemasa-COVID-19-v4.pdf>). Además, se realizó detección fenotípica de resistencia a la colistina mediada por plásmidos para Enterobacterales. En un aislamiento clínico identificado como *Klebsiella pneumoniae* S2308, se identificó la resistencia a carbapenémicos, con CIM elevadas a Imipenem (> 8µg/ml) y meropenem (>8µg/ml), se detectó presencia de carbapenemasa por prueba enzimática Blue Carba. Con la aproximación estratégica con discos de antimicrobianos (EDTA - Ceftazidima/Avibactam - Aztreonam - Acido clavulánico) y por prueba de inmuno-cromatografía de flujo lateral se evidencio la co-expresión de enzimas KPC y NDM que confieren resistencia a cefalosporinas, monobactamas y carbapenémicos, con un perfil de MDR, siendo también resistente a ciprofloxacino, cloranfenicol, gentamicina, cotrimoxazol; sin embargo, permaneció susceptible a minociclina, amikacina y fosfomicina. Además, frente a colistina presento una CIM >4µg/ml, sin producción de mcr. Este aislamiento representa el primer reporte de KPN productor de doble carbapenemasa y resistencia a colistina en un paciente con neumonía COVID-19. Los laboratorios de Microbiología de las instituciones públicas deben considerar evaluar la sensibilidad a carbapenémicos cuando se requiera el uso de estos antimicrobianos como opción de tratamiento. Es importante continuar la vigilancia de la resistencia a carbapenémicos y la co-expresión de enzimas para prevenir y controlar la propagación de esta emergencia. En conclusión, presentamos el primer reporte de Enterobacterales doble productor de carbapenemasa NDM-KPC y resistencia a colistina no plasmídica, revelando la co-expresión de estos dos genes en un aislamiento clínico de un hospital de tercer nivel del Perú. Este hallazgo, se constituye un importante desafío tanto para el diagnóstico, como para la terapéutica, ya que limita la utilización de la mayoría de antimicrobianos de reserva. No obstante, se requiere un mayor número de aislamientos de muestras clínicas para inferir una mayor significancia.

Financing: Gracias al apoyo de Andina Médica Filial Perú

OTRO

Evaluación de tres metodologías que permiten la inducción in vitro de la cápsula de *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*.

José Luis Rodas Restrepo¹, Clara María Duque Restrepo¹, Claudia María Cuervo Araque¹, Ivan Leonardo Mojica Figueroa², **Juan Carlos Gómez Velásquez**²

- (1) Colegio Mayor de Antioquia, Antioquia, Ciencias de la Salud, Carrera 78 #65 - 46, Medellín, Colombia
- (2) Laboratorio Clínico SYNLAB.S.A.S, Antioquia, Calle 19A#44-25, Medellín, Colombia

Objetivo: Evaluar la eficacia de tres métodos para inducción in vitro de cápsula de *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*. **Materiales y metodos:** Se usaron 15 cepas de *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*, conservadas en leche descremada al 20 %, que fueron reactivadas, aisladas y sometidas a la técnica de Thomaz et al 2016, Zaragoza & Casadevall 2004, y una modificación del método de Zaragoza & Casadevall 2004, para la inducción y formación de cápsula in vitro, identificadas por EM MALDI-TOF. El tiempo de incubación correspondió a 24 horas, periodos más prolongado no influyen significativamente en el aumento del tamaño de la capsula. Para el método (A) se preparó un patrón McFarland entre 0.89 y 1.29 en agua estéril con cada cepa, para el método B y C un patrón entre 2.3 y 2.5 con PBS y agua estéril respectivamente. Posterior a la incubación de 24 horas se centrifugó a 870 g por 5 minutos y se descartó el sobrenadante; se suspendió en 100 µl de agua estéril. Una vez suspendidas las células, se tomaron 20µl de suspensión y 10µl de tinta china diluida 1:8 para su lectura al microscopio. Usando un microscopio Olympus CX33 equipado con regla micrométrica calibrada se realizó la medición del diámetro total levadura y el diámetro de la levadura con el espacio capsular. Finalmente se halló la diferencia entre la circunferencia de la cápsula y la circunferencia de la levadura para definir el tamaño capsular. De cada método se eligieron 20 blastoconidias por cepa, y así estimar el porcentaje de células con producción de cápsula (capacidad de inducción de cápsula). **Resultados:** El método A y C indujeron cápsula en el 100% (15/15) de las cepas estudiadas, el método B solo en 86.67% (13/15) de las cepas; de igual forma, para el método A el 99,33% (280/300) produjo cápsula en todas las células de la población, mientras que para el método B y C el 53,33% (160/300) estas presentaban entre el (5%-20%) y (60%-100%) de células capsuladas respectivamente. El tamaño de la cápsula vario según el método, y se encontraron tamaños entre los 0,5µm y 2 los 11,5 µm. **Conclusiones:** El método A presento más eficiencia en cuanto a producción y tamaño de capsula. La variabilidad biológica juega un papel determinante para reconocer las condiciones ideales e inducir la producción de capsula similar a la formada en el hospedero.

Financing: Laboratorio clínico SYNLAB.S.A.S. Institución universitaria Colegio Mayor de Antioquia

Más allá de los sentidos: la Microbiología como herramienta para el aprendizaje de las Ciencias Naturales

María Belén Estevez^{1,2}, Gabriela Rodríguez³, Florencia Siri⁴, Mariana Barraco^{1,2}, Felipe Clavijo^{1,2}, Valentina Croce^{1,2}, Nicol Denis^{1,2}, Virginia Ferreira^{1,2}, Sofía Fort^{1,2}, César Iglesias^{1,2}, Gonzalo López^{1,2}, Paola Panizza^{1,2}, Sofía Raffaelli^{1,2}, Diego Umpiérrez^{1,2}, Ariel Tijman^{1,2}, María Inés Siri^{1,2}, Gianna Cecchetto^{1,2}

(1) Área de Microbiología, DEP BIO, Facultad de Química, Universidad de la República, Avenida General Flores 2124, Montevideo, Uruguay

(2) Área de Microbiología, IQB, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Av. Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay

(3) Escuela N° 124 "Rincón de Melilla", CEIP-ANEP, Montevideo, Uruguay

(4) Escuela N° 117 "Naciones Unidas", CEIP-ANEP, Montevideo, Uruguay

Los microorganismos se encuentran en todos lados cumpliendo funciones de extrema importancia para la vida y cada día se descubre su presencia en nuevos y sorprendentes lugares. Sin embargo, este mundo microscópico es prácticamente desconocido por gran parte de la población y es asociado casi exclusivamente a aspectos negativos, como los microorganismos patógenos. Desde el Área Microbiología de Facultad de Química y Facultad de Ciencias (Universidad de la República, Uruguay) nos hemos propuesto desterrar la mala fama de los microorganismos. Para ello participamos desde hace varios años en diversas actividades de extensión y vinculación con el medio en las que brindamos información destacando la importancia de la Microbiología y de los microorganismos buscando despertar el interés de la población general hacia dicha disciplina. En este contexto surge el proyecto "Más allá de los sentidos: la Microbiología como herramienta para el aprendizaje de las Ciencias Naturales" que busca no solo exponer los aspectos positivos del mundo microbiano sino también generar insumos que puedan ser utilizados en distintos niveles de enseñanza, focalizándose principalmente en la población infantil. Para ello se generó un Espacio de Formación Integral (EFI), en donde se combina la extensión con la investigación y la enseñanza. Este EFI tiene dos módulos: en el primero se introduce a los estudiantes universitarios en la enseñanza de las ciencias a nivel de educación primaria, en tanto el segundo está dedicado a la generación de actividades experimentales y juegos por parte de los estudiantes que finalmente son llevados a la práctica mediante visitas a las escuelas participantes. Por otro lado, la llegada del virus SARS-CoV-2 trajo consigo otra pandemia: la de la desinformación, que sumada al aislamiento social generó inseguridad y angustia. Desde nuestra Área intentamos combatir dicha situación mediante la creación de materiales didácticos informativos confiables que ayudaran a comprender y confrontar la situación. Para ello se crearon dos juegos relacionados con la temática: "Dominó de Microbios", una versión microbiana del clásico juego del dominó para que los más pequeños de la familia se introduzcan al mundo de los microorganismos y "Carrera Antiviral", un juego cooperativo de preguntas y respuestas en donde solo se gana si todos los jugadores llegan a la meta antes que el personaje del coronavirus. En este trabajo exhibiremos las diferentes actividades desarrolladas.

Financing: Comisión Sectorial de Extensión y Actividades en el Medio, Universidad de la República, Uruguay

PERCEPCIÓN FRENTE AL USO DE LABORATORIOS VIRTUALES DE BACTERIOLOGÍA DURANTE LA PANDEMIA POR COVID-19, EN ESTUDIANTES DE UNA UNIVERSIDAD PRIVADA DE LIMA – PERÚ

Miguel Mogollón Almidón¹

(1) Universidad Privada del Norte, Enfermería, Ciencias de la Salud, Av. Tingo María 1122, Lima, Perú

Introducción: La pandemia actual causada por la COVID-19 ha impactado notablemente en diferentes ámbitos de la sociedad, dentro de los cuales se evidencia el rol de los docentes en liderar iniciativas desde el aprendizaje electrónico (E-learning) para la transición a esta nueva modalidad de enseñanza manteniendo la calidad educativa. Un aspecto particular representa la enseñanza de la microbiología médica ya que es una asignatura teórico-práctica en la cual mediante experiencias presenciales de laboratorio se estimula el pensamiento crítico y científico. Sin embargo, dado el contexto los laboratorios virtuales permiten un escenario dinámico en el cual se puede aprender por ensayo repetitivo, fuera del horario de clase y comprender la relevancia de lo aprendido. El objetivo del presente estudio fue evaluar la percepción estudiantil frente al uso de laboratorios virtuales de bacteriología. **Método:** Como parte de un curso virtual de microbiología médica se diseñaron 3 sesiones de aprendizaje y sendas guías prácticas sobre los temas: tinción de Gram, cultivo bacteriano y antibiograma. Se empleó el recurso gratuito "Virtual Interactive Bacteriology Laboratory" de la Universidad Estatal de Michigan (<https://learn.chm.msu.edu/vibl/index.html>). Luego de las 3 experiencias se aplicó a los estudiantes un cuestionario virtual con escala tipo Likert con 10 preguntas. **Resultados:** De los 68 estudiantes encuestados, el 76.5% se mostró totalmente de acuerdo con que los laboratorios virtuales desarrollados le permitieron comprender mejor las clases teóricas. El 64.7% y 29.4% manifestaron estar totalmente de acuerdo y de acuerdo, respectivamente con la idea de que las instrucciones de la guía fueron claras. El 67.6% reconoció que aprende más en un curso que tiene estos laboratorios virtuales que en uno que no las tiene. El 97% manifestó que estas prácticas estimulan su pensamiento crítico. El 88% de los estudiantes recomendaría estos laboratorios virtuales. **Conclusiones:** La inclusión de prácticas virtuales interactivas permite que los estudiantes formen parte de una experiencia de enseñanza-aprendizaje significativa la cual se ve reflejada en su percepción positiva aún cuando por medidas sanitarias se han suspendido prácticas de laboratorio presenciales.

Herramientas digitales para enriquecer el proceso de enseñanza-aprendizaje de microbiología en el aula virtual universitaria

Karla Veas Mattheos¹, Camilo Berríos¹, Katerin Almendras¹, Macarena Varas¹, Yosbany Pérez¹, Nayla Serey¹, Francisco Chávez¹, Julieta Orlando¹

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

La pandemia asociada a la COVID-19 alteró la cotidianidad de nuestras vidas, incluyendo el desarrollo de actividades de la educación superior universitaria. La flexibilidad, empatía y compromiso de equipos docentes, funcionarios y estudiantes ha sido fundamental para una rápida adaptación al nuevo escenario. Los equipos docentes han empleado diversas herramientas virtuales con el objetivo de alcanzar los resultados de aprendizaje planteados en los cursos. En particular, en el área de Microbiología, dispensar de la presencialidad en las actividades prácticas de laboratorio ha sido un gran desafío. En este trabajo, a modo de ejemplo, presentamos las diferentes herramientas y actividades que hemos implementado en cursos de Microbiología de la Universidad de Chile que conforman el plan de formación de diferentes carreras profesionales (Ingeniería en Biotecnología Molecular, Biología con mención en Medio Ambiente y Pedagogía en Educación Media en Biología y Química). Estos cursos se caracterizaron por incluir actividades sincrónicas, en las cuales se llevaron a cabo instancias de conversación y debate sobre las distintas temáticas del curso; y actividades asincrónicas, cuyo objetivo fue incentivar el trabajo individual de los estudiantes por medio de la revisión del material disponible en la plataforma institucional y la realización de diferentes tareas asociadas. Con el fin de potenciar las habilidades sociales y expositivas, el trabajo en equipo y la coordinación de los estudiantes, se realizaron actividades grupales de las cuales destacamos: (i) exposición de material bibliográfico, incluyendo actividades interactivas para facilitar la incorporación de los contenidos, y (ii) desarrollo de material de divulgación científica o material pedagógico (infografías, hilos de twitter, etc.) basados en los contenidos temáticos de los cursos. Por otra parte, para evaluar el desempeño individual de cada estudiante, se desarrollaron actividades como: (i) utilización de videos y simuladores para suplir las actividades prácticas, (ii) revisión de charlas TED relacionadas con los temas de los cursos, y (iii) participación en el foro virtual para discutir problemáticas propuestas por el equipo docente. Las actividades se complementaron con pruebas teóricas que buscaron evaluar las competencias de los estudiantes para situarse en diferentes contextos y aplicar o compartir los conocimientos adquiridos. En dichas pruebas, los estudiantes debieron desarrollar sus respuestas en un texto acotado de acuerdo con la situación del enunciado (e.g. exposición ante una comisión, conversaciones con amigos, propuesta de investigación formal, diseño de una actividad práctica para implementar en colegios, entre otras). Todo el material relacionado con los cursos (i.e. presentaciones, videos de las clases, artículos científicos, enlaces, etc.) quedó disponible en la plataforma institucional para su fácil acceso en cualquier momento, y todas las actividades incluyeron pautas y rúbricas de evaluación e instancias de resolución de dudas y retroalimentación. Al finalizar los cursos, los estudiantes respondieron una encuesta de retroalimentación a la docencia virtual, en donde se pudo apreciar que la mayoría dio cuenta de una alta valoración a las actividades implementadas en los cursos.

Financing: FONDECYT 1181510

Evaluación de la interacción proteína-proteína entre Dap1 y la proteína P450 CrtS que cataliza la síntesis de astaxantina desde β -caroteno en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*

Maximiliano Venegas¹, Ana María González¹, Salvador Barahona^{1,2}, Dionisia Sepúlveda^{1,2}, Marcelo Baeza^{1,2}, Víctor Cifuentes^{1,2}, Jennifer Alcaíno^{1,2}

- (1) Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- (2) Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

X. dendrorhous es una levadura capaz de producir carotenoides y entre ellos destaca la astaxantina, debido a su importante aplicación en las industrias acuícola y cosmética, principalmente. El Pirofosfato de isopentenilo (IPP) proveniente de la ruta del mevalonato (MVA) es el precursor de la biosíntesis de carotenoides en esta levadura, y a su vez también es precursor de la biosíntesis de ergosterol, el cual cumple un rol similar al colesterol en mamíferos regulando la permeabilidad de la membrana. En la síntesis de astaxantina, el gen *crtS* codifica la enzima astaxantina sintasa, que pertenece a la familia de proteínas citocromo P450, la cual cataliza las reacciones para convertir el β -caroteno en astaxantina. En la síntesis de ergosterol también participan dos enzimas citocromo P450: Cyp51 y Cyp61. En *S. pombe* se describió un regulador positivo de citocromos P450s denominado Dap1 (Damage resistance protein 1), cuya participación en la síntesis de esteroides fue demostrada. En nuestro laboratorio se identificó el gen DAP1 en la levadura *X. dendrorhous*, cuya delección afecta la síntesis de carotenoides y esteroides, específicamente en la composición de éstos disminuyendo la producción de astaxantina y ergosterol, respectivamente. Además, se evidenció mediante ensayos de co-inmunoprecipitación (Co-iP), que existe una interacción proteína-proteína entre Dap1 y las proteínas P450 que participan en la biosíntesis de ergosterol, Cyp51 y Cyp61. En este trabajo, se construyó una cepa de la levadura que contiene a la proteína Dap1 fusionada al epítipo FLAG y a la proteína CrtS fusionada al epítipo HA para evaluar mediante un ensayo de Co-iP si las proteínas CrtS y Dap1 interactúan. Se evaluó la correcta obtención de la cepa diseñada y se realizaron ensayos de Co-iP con un anticuerpo anti-FLAG y revelando con un anticuerpo anti-HA, incluyendo controles. Los resultados muestran que las proteínas CrtS y Dap1 si interactúan, lo que apoya el rol de Dap1 como un "regulador general" de enzimas citocromo P450. De esta manera, Dap1 también cumpliría una función en la síntesis de astaxantina de *X. dendrorhous*, regulando la función de la proteína CrtS.

Financing: Financiamiento: ENL08/20, Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo (VID) de la Universidad de Chile.

Best Poster Prize ASM ALAM 2021 PY

Best Poster Prize ASM ALAM 2021 PY

ALAM 2021¹

(1) Without Affiliation

Metabiome: a flexible and modular pipeline for metagenomic analysis

Cristian Grisales Vargas¹, Estefany Lorenzana^{1,2}, Juan Esteban Pérez Jaramillo^{1,2}, Juan Camilo Arboleda Rivera^{1,2,3}

(1) Universidad de Antioquia, Unidad de Bioprospección y Estudios de Microbiomas (UBP), PECET, Facultad de Medicina, Cl. 62 #52-59, Medellín, Colombia

(2) Universidad de Antioquia, Semillero de Investigación en Bioinformática-GenomeSeq, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Km 6 Vía Rionegro-La Ceja, Carmen de Viboral, Colombia

(3) Universidad de Antioquia, Grupo de Fundamentos y Enseñanza de la Física y los Sistemas Dinámicos, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Cl. 67 ##53-108, Medellín, Colombia

Analysis of metagenomic data is often a complex task that involves the use of a set of different bioinformatic software in order to go from raw reads to interpretable and useful information about a microbial community. Although these software packages can be integrated into bioinformatic pipelines to facilitate their use to the scientific community, most of the bioinformatic pipelines to date do not show greater flexibility. And sometimes they require previous knowledge in different programming languages. Therefore, we present Metabiome, an easy-to-use, open-source metagenomic pipeline that performs preprocessing, functional and taxonomic profiling, genome assembly and binning of short sequencing reads from Next-Generation-Sequencing (NGS) technologies. Metabiome is a command-line tool that consists of Bash wrapper scripts that are contained in different Conda environments (modules). It is easily installed through Conda and can work with different GNU/Linux distributions. Moreover, Metabiome has an easy command-line interface that does not require deep knowledge in Bash programming. Each of the Metabiome's modules contain up-to-date bioinformatic software that perform specific tasks of the metagenomic analysis. The modules also provide flexibility because the user is free to choose which of them to use. Likewise, the user is also free to choose the options to run each of the bioinformatic software that are contained within the modules. Metabiome has been tested on a previous mouse gut microbiome study showing similar results, and including the detection of novel microorganisms which were not reported in the original article. Taken all together, Metabiome will ease the work in metagenomic analysis for non-bioinformaticians, by providing an easy-to-use, module-based and customizable metagenomic pipeline.

Acidithiobacillus thiooxidans as a model for deciphering biofilm formation by acidophile bacteria

Mauricio Díaz¹, Dr. Serra Diego³, Dr. Hengge Regine², **Nicolas Guiliani**¹

(1) Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

(2) Institut für Biologie/Mikrobiologie, Humboldt-Universität zu Berlin, Germany;

(3) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, CONICET, Universidad Nacional de Rosario, Argentina

Acidithiobacillus species belonging to the new class of proteobacteria Acidithiobacillia are predominant structural and active players in acidophile communities. The genus Acidithiobacillus consists of seven gram-negative, acidophilic and chemolithautotrophic species that can oxidize only reduced inorganic sulfur compounds (RISC) such as *A. thiooxidans* and *A. caldus* or both iron and RISCs such as *A. ferrooxidans*. All Acidithiobacillus species are capable of developing biofilms and it is well established that the presence of bacterial biofilms on mineral surfaces contributes to enhance bioleaching activities. Therefore, understanding the molecular mechanisms involved in biofilm formation by acidophile bioleaching bacteria has been presented as a promising new approach to improve biomining efficiency and to control environmental bioleaching damages due to acid mine/rock drainage. The main characterized molecular mechanisms involved in the regulation of biofilm formation in bacteria are quorum sensing (QS) system and the cyclic diguanylic acid (c-di-GMP) pathway. We have previously reported that QS communication system mediated by acyl-homoserine lactone molecules modulates biofilm formation in the iron/sulfur oxidizer specie *A. ferrooxidans* while c-di-GMP pathway is functional and plays an active role in biofilm formation by different Acidithiobacillus species including sulfur as well as sulfur/iron oxidizing species. Here we will present results that revealed that QS signal molecules modulate the transcription level of the c-di-GMP effector encoding gene *pelD*. Indeed, a working model integrating QS and c-di-GMP pathway in the sulfur oxidizer specie *A. thiooxidans* will be proposed to continue the deciphering of biofilm formation by acidophile species.

Financing: Fondecyt 1160702, 1120295 and 1080441.

Efecto de la dieta mediterránea en la composición de la microbiota intestinal y su posible uso para prevenir enfermedades.

Oscar Illescas Pomposo¹, Miriam Rodríguez-Sosa², Manuela Gariboldi¹

(1) Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Genetic Epidemiology and Pharmacogenomics Unit, Department of Research, via Venezian 1, Milán, CAP 20133, Italia

(2) Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Unidad de Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores - Iztacala, Avenida de los Barrios Número 1, Colonia Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, MEX, CP 54090, México

INTRODUCCIÓN. El aumento en años recientes de la incidencia y mortalidad de distintos tipos de cáncer en países en desarrollo ha sido asociado con cambios en el estilo de vida. La exposición a contaminantes ambientales, estrés, sedentarismo y una dieta inadecuada han sido postulados como factores que aumentan el riesgo de desarrollar múltiples enfermedades. La disbiosis es un desbalance del equilibrio de la microbiota, debido a cambios en su composición o función metabólica, y es una característica común en el cáncer colorrectal (CRC) y la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), que ha sido asociada a la dieta occidental (WD), rica en grasas, sal, alimentos de origen animal y carbohidratos refinados. En contraposición, la adherencia a la dieta mediterránea (MD) se ha propuesto como un mecanismo de prevención de la disbiosis y de múltiples enfermedades. Para determinar si el efecto modulador de la MD sobre la composición de la microbiota intestinal soporta su posible uso como medida preventiva contra CRC o IBD, realizamos un metanálisis de datos de secuenciación 16S disponibles públicamente. Comparamos la microbiota de sujetos que siguieron una MD u otras dietas, y de pacientes con CRC, IBD u otras enfermedades relacionadas. **MÉTODOS.** Realizamos una búsqueda en las bases de datos PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) y Sequence Read Archive (SRA, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>), con distintas combinaciones de los términos "gut microbiota", "16s", "colitis", "IBD", "Crohn's disease", "colorectal cancer", "colon cancer", "colon adenoma", "adenomatosis", "Mediterranean diet", "Western diet", "westernized diet", "paleolithic diet", "fodmap", "ketogenic diet". Los datos individuales fueron agrupados en pacientes de CCR, de EII o de adenoma colorrectal (CA), sujetos que siguieron una MM, dieta paleolítica (PD) o WD, controles sanos sin una dieta específica (HC) y sujetos en riesgo de desarrollar EII o cáncer (RS). Las secuencias fueron procesadas y analizadas con el programa QIIME (<https://qiime.org>), y alineadas contra la base de datos de secuencias 16s Greengenes (<https://greengenes.secondgenome.com>) para su clasificación como unidades taxónomicas operativas (OTU). Se predijo el enriquecimiento de vías metabólicas en los distintos grupos con Picrust. Las diferencias en la representación de un OTU entre dos distintos grupos fueron consideradas significativas cuando $p < 0.01$ en una prueba de Mann-Whitney y después de una corrección por el método de Benjamini-Hochberg. **RESULTADOS.** Observamos que los sujetos que seguían la DM presentaron una tendencia opuesta a los pacientes de CA y CRC en la abundancia tanto de algunas bacterias patógenas como de comensales con propiedades benéficas. El grupo DM presentó una menor abundancia de los phyla Fusobacteria y Proteobacteria, potenciales patógenos con propiedades proinflamatorias, y una mayor representación de Actinobacteria, que contiene especies productoras de sustancias antiinflamatorias. De forma similar, algunas de estas diferencias se encontraron al comparar la DM con los grupos RS, HC y WD. Por su parte, la PD presentó una menor cantidad de OTU diferentemente representados contra controles y pacientes, y estas diferencias coincidieron parcialmente con las presentadas por la DM. **CONCLUSIÓN.** Nuestros resultados sugieren que el efecto modulador de la DM en la microbiota intestinal puede ayudar a prevenir el desarrollo de disbiosis, EII y CCR.

Financing: Oscar Illescas recibió una beca por parte del programa de becas posdoctorales del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) durante la preparación de este trabajo.

MTBVAC en el Camino a una Nueva Vacuna Contra la Tuberculosis

Carlos Martín¹

(1) Universidadde Zaragoza, Departamento Miocrobiologia, Zaragoza, España

Actualmente 14 candidatos a vacuna contra la tuberculosis se encuentran en desarrollo clínico. MTBVAC es uno de estos candidatos, siendo la única vacuna viva atenuada basado en un aislamiento clínico de *Mycobacterium tuberculosis*. El diseño, construcción y caracterización MTBVAC están basados en los principios clásicos de Louis Pasteur para el desarrollo de vacunas contra microorganismos patógenos. La centenaria BCG, es la única vacuna contra la tuberculosis autorizada hoy en uso. BCG es una vacuna viva atenuada basada en *Mycobacterium bovis*, el patógeno causante de la tuberculosis bovina y ha servido como estándar de referencia para establecer la seguridad y la eficacia protectora de MTBVAC. MTBVAC contiene el repertorio completo de antígenos de *M. tuberculosis*, y después de 25 años de desarrollo está lista para iniciar ensayos de eficacia de Fase 3 en recién nacidos en países donde la tuberculosis es endémica. BCG confiere inmunidad inespecífica a otras enfermedades y reduce la mortalidad en los primeros meses de vida. Hoy, la OMS reconoce la importancia de que cualquier nueva vacuna contra la tuberculosis diseñada para su administración al nacer, deberá mostrar resultados inespecíficos beneficiosos similares a los de BCG, vía mecanismos de inmunidad entrenada en respuestas a otros patógenos. Estudios recientes brindan un fuerte apoyo a la capacidad de MTBVAC de inducir inmunidad entrenada y que confiere una protección heteróloga inespecífica similar a BCG. Investigación sobre rutas alternativas de administración de MTBVAC, como la administración por aerosol ha demostrado ser clínicamente factible en modelo de macaco, y su uso en humanos podrían facilitar su administración para los programas de erradicación de la tuberculosis a largo plazo en el futuro. Referencia: "MTBVAC, a live TB vaccine poised to initiate efficacy trials 100 years after BCG". Martín C, Marinova D, Aguiló N, Gonzalo-Asensio J. Vaccine. 2021 Jul doi: 10.1016/j.vaccine.2021.06.049.<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X21007994?via%3Dihub>

Financing: El proyecto MTBVAC ha sido financiado de forma continua estos 25 años con fondos del Gobierno Español (RTC-2017-6379-1) y de la Unión Europea EDCTP2 "RIA-2016-V-1637" MTBVACN2 Phase 3 efficacy"RIA2019S-2652" MTBVACN3

El cómic como forma de divulgación de la microbiología

María José González¹, Daniela Arredondo¹, Valentina Carrasco³, María Morel², Ana Umpierrez¹, Nicolás Peruzzo⁴, Alejandro Rodríguez-Juele⁴, PAOLA SCAVONE¹

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Dpto. de Microbiología, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

(2) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Dpto. de Bioquímica y Genómica Microbiana, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

(3) Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Lab. de Bionanotecnología y Microbiología, Universidad Andrés Bello, Santiago de Chile, Chile

(4) Bandas Educativas, Montevideo, Uruguay

Históricamente, los microorganismos han sido asociados a enfermedades que afectan tanto a humanos como animales. Sin embargo, pasa desapercibido el gran impacto y relevancia de los microorganismos en nuestro día a día. El mayor desafío en la microbiología es que no somos capaces de ver a simple vista ni a las bacterias ni a los virus. Es aún más complicado para los niños, ya que no existe al día acceso a material específico desarrollado según su edad y sus necesidades. En este contexto, es necesario explorar diversas estrategias con el fin de comunicar y enseñar la microbiología. Al día de hoy, el uso de cómics en la enseñanza de la microbiología ha demostrado que puede transmitir conceptos complejos y desafiantes. Son un recurso popular entre los niños principalmente por poner un foco en la estética visual y presentar poca cantidad de texto. Los cómics pueden presentar temas empleando el humor y la exageración, lo que hace que tengan gran atención. Tiene un rol fundamental el uso del antropomorfismo, ya que permite explicar conceptos que ocurren más allá de la percepción humana. Convencidos de la importancia que la educación científica tiene en los más pequeños, participamos de varios proyectos desarrollando comics como herramienta de alfabetización, principalmente para niños y público en general. Por los motivos mencionados, nos planteamos emplear la experiencia desarrollada previamente, para colaborar con otros investigadores a poder presentar sus resultados empleando este recurso. En el primer cómic desarrollado por el grupo ComicBacterias (Bacterias, la historia más pequeña jamás contada) se desarrollaron los personajes principales, Coco y Fran, así como el universo en el cual transcurre la historia. Empleando este universo y sus personajes, es que podemos crear material de divulgación y popularización de los resultados de proyectos de investigadores de Latinoamérica. Dentro de los nuevos comics desarrollados, se encuentran "Coco y Fran en el plan de Tuberculosis", "Coco y Fran contra el Echinococcus" y "Coco Y Fran en el mercado microbiota". Cada uno de ellos presenta un eje temático de interés y una idea principal que se quiere transmitir de forma clara y concisa. Todo el material creado se encuentra disponible de forma gratuita en la página web <http://www.comicbacterias.com>. El uso de los cómics como estrategia para la enseñanza de la microbiología brindará importantes herramientas para los niños, así como a sus padres y a la población en general. Esto permite que puedan tener el conocimiento para tomar decisiones de manera informada y tener argumentos reales contra las fake news.

Efecto del retroceso glaciar sobre las comunidades microbianas de lagos antárticos: avances desde la paleolimnología

Claudia Piccini Piccini¹, Florencia Bertoglio^{1,2}, Dermot Antoniades², Felipe García-Rodríguez³

(1) Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay.

(2) Département de Géographie, Université Laval, Québec, Canada.

(3) Centro Universitario Regional Este – UdeLaR, Rocha, Uruguay.

La Península de Fildes (PF) comprende la parte sur-oeste de la Isla Rey Jorge (Antártida) y está rodeada por el glaciar Collins. La península estuvo cubierta de hielo hasta la última deglaciación (hace 6000 años), cuando la retracción del glaciar Collins dio lugar al surgimiento de varios lagos. Datos recientes sugieren que el glaciar Collins ha sufrido un retroceso continuo durante los últimos 30 años, producto del aumento de la temperatura media anual y el concomitante aumento de lluvias intensas. El registro sedimentario de los lagos formados durante el retroceso del glaciar contiene información a escala interanual acerca de la magnitud de los cambios ocasionados por el deshielo, supeditados a los cambios de temperatura y al calentamiento global a escala regional y global. Entre esos lagos se encuentra el Lago Uruguay (LU), localizado a 500 m del glaciar Collins. La litología y cronología obtenidas de testigos de sedimento del LU (²¹⁰Pb, ¹³⁷Cs, ¹⁴C, isótopos estables, biomarcadores lipídicos, metales pesados, mineralogía y escaneo de elementos mediante XRF) registran un incremento en la productividad durante el último siglo y sugieren un incipiente proceso de eutrofización. Análisis de series temporales revelaron además que el lago despliega ciclos de variabilidad relacionados a El Niño Oscilación del Sur (ENOS) que se reflejan en el ingreso de materia orgánica y en la productividad. El análisis de la estructura de la comunidad bacteriana del LU en muestras de sedimento correspondientes al último siglo (secuenciación del gen ADNr 16S) permitió detectar una pérdida de riqueza y diversidad de taxones entre 1990 y 2010, asociada a procesos de aumento de escorrentía y de sedimentación causados por eventos de retracción del glaciar. Dichos eventos se relacionan con el incremento de la temperatura que se registra en la región a partir de esa década. En particular, los episodios de disminución de riqueza y diversidad bacteriana se relacionaron a aumentos en la cantidad de carbono orgánico y nitrógeno total ingresados al sistema a través de la escorrentía. De manera similar, el análisis de las comunidades bacterianas planctónicas actuales de los lagos de la PF muestran que la desaparición de la capa de hielo invernal y el aumento de la escorrentía ocurridas durante el verano tienen un efecto significativo y negativo sobre la riqueza y diversidad. En conjunto, los resultados sugieren que los eventos climáticos tales como ENOS, potenciados por las actividades humanas (cambio climático, eutrofización), amenazan a la biodiversidad de los lagos en la PF. Esto representa una señal de alerta sobre las posibles consecuencias a nivel del funcionamiento de estos ecosistemas.

Financing: Financiamientos: Instituto Antártico Uruguayo (IAU), PEDECIBA, Instituto Antártico Chileno (INACH), DAAD, Programa CALDO-ANII.

SATREPS-MACH: A Chilean-Japanese scientific initiative focused on algae and their microbiota to understand harmful algal bloom events on Chilean coasts

Milko Jorquera¹, Jacqueline Acuña¹, Joaquin-Ignacio Rilling¹, Marco Campos¹, Andrés Ávila¹, Mariela Gonzalez¹, Leonardo Guzmán², Oscar Espinoza-González², Pamela Carbonell², Jonnathan Vilugrón², Alejandro Murillo², Gonzalo Gajardo³, Patricia Beristain³, Karen Vergara³, Carlos Riquelme⁴, Henry Cameron⁴, Satoshi Nagai⁵, Shoko Ueki⁶, Mikihiro Kawai⁷, Kyoko Yarimizu⁸, So Fujiyoshi⁸, Fumito Maruyama⁸

(1) Universidad de La Frontera, Scientific and Biotechnological Bioresource Nucleus, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Instituto de Fomento Pesquero, Centro de Estudios de Algas Nocivas, Padre Harter 574, Puerto Montt, Chile

(3) Universidad de Los Lagos, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Ave. Alcalde Gustavo Fuchslocher 1305, Osorno, Chile

(4) Universidad de Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Ave. Angamos 601, Antofagasta, Chile

(5) Japan Fisheries Research and Education Agency, Fisheries Resources Institute, Kanagawa 236-8648, Yokohama, Japan

(6) Okayama University, Institute of Plant Science and Resources, 2-20-1 Chuo, Kurashiki, Okayama 710-0046, Japan

(7) Kyoto University, Graduate School of Human and Environmental Studies, Yoshidanihonmatsu-cho, Kyoto 606-8501, Japan

(8) Hiroshima University, Department of Microbial Genomics and Ecology, 1-3-2 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8511, Japan

Harmful algal blooms (HABs) have serious impacts on ecosystems, public health, and economic activities of Chile. Here we postulated that the bacterial community could play a pivotal role in the occurrence and dynamic of HABs on the Chilean coasts. However, our current knowledge on composition and interactions of HAB-associated bacteria is still very limited. Under this scenario, the SATREPS-MACH project (<https://www.mach-satreps.org/es/>), a Chile-Japan scientific initiative from 2018 to 2023, has as main goals: (1) to characterize the HAB-microbial constituents by high throughput DNA sequencing (HTS), (2) to identify microbe-microbe interactions and determinants of HABs, (3) to detect and predict the occurrence of some HAB species, and (4) to establish a HAB-consortium formed by members of academia, government, aquaculture, and fisheries. Currently, a database is being built containing 18S and 16S rRNA gene sequences from 1893 DNA samples (from September 2019 to June 2021). Over 300 phytoplankton-associated bacteria have been isolated and now co-culture assays are running to determine their interaction with some HAB species under deficiency of iron (FePO₄), nitrogen (NO₃), and vitamin (B1, B7, and B12). In addition, suitcase and mobile laboratories have been developed for the monitoring and detection of HAB species in situ, as well as for outreach and educational activities. In this context, diverse open-access protocols (sampling and HTS) and videos (suitcase use) directed to a wide audience such as students, professionals, technicians and artisanal fishermen have been published. Using our database and results, it is expected that current forecasting systems and public policies in Chile will be complemented and/or improved to mitigate the impact of HABs on ecosystems, public health, and economic activities.

Financing: SATREPS-MACH project JPMJSA1705.

Identificación de un posible segundo regulador de la síntesis de esteroides y carotenoides en la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

Melissa Gómez Ríos¹, Marcelo Baeza¹, Víctor Cifuentes¹, Jennifer Alcaíno¹

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Santiago, Chile

En *X. dendrorhous* la producción de carotenoides y esteroides es regulada por el factor de transcripción Sre1 de la ruta Sterol Regulatory Element-Binding Protein (SREBP). Esta última es una ruta conservada que está involucrada en el mantenimiento de la homeostasis de lípidos, y que en hongos también contribuye a la respuesta de resistencia a los compuestos azoles, los cuales son antifúngicos que afectan negativamente la síntesis de ergosterol, el principal esteroide en hongos. En *X. dendrorhous*, la respuesta de resistencia a los azoles estaría dada por la regulación de Sre1 de genes codificantes de transportadores dependientes de ATP, entre ellos un gen homólogo a *cdr1B* de *Aspergillus fumigatus* que codifica a Cdr1B, el cual es un estudiado transportador que contribuye a la resistencia a los azoles. Curiosamente, en *A. fumigatus* el gen *cdr1B* es regulado por el factor de transcripción AtrR, el cual está involucrado en la respuesta de resistencia a los azoles, y adicionalmente regula a la ruta SREBP de *A. fumigatus* a través del control directo de los genes codificantes de los factores de transcripción homólogos a Sre1 de *X. dendrorhous* (*SrbA* y *SrbB*). Interesantemente, AtrR y *SrbA* comparten genes blancos en *A. fumigatus*, entre ellos, genes involucrados en la síntesis de esteroides; y su regulación se realiza a través del reconocimiento de los motivos ATRE y SRE de unión al ADN, respectivamente, ubicados en la región promotora de los genes blanco. En *X. dendrorhous*, mediante un análisis bioinformático de alineamiento de secuencias se detectó una proteína candidata de 1095 aminoácidos homóloga al factor de transcripción AtrR (895 aminoácidos), y al igual que este último, porta un dominio N-terminal de unión al ADN del tipo GAL4-like Zn(2)-Cys(6), y un dominio factor de transcripción específico de hongos. La proteína de *X. dendrorhous* posee un 29,18% de identidad de secuencia con un 40% de cobertura con respecto a la proteína AtrR de *A. fumigatus*. En la región promotora de algunos genes blanco de Sre1 se detectaron posibles motivos ATRE (CGG(N)12CCG) permitiendo 1 mismatch entre la secuencia del motivo y la secuencia del promotor analizado, lo que podría indicar una posible regulación adicional a Sre1 a cargo del homólogo de AtrR. Por lo tanto, probablemente la biosíntesis de esteroides y carotenoides es regulada adicionalmente por el homólogo de AtrR en *X. dendrorhous*.

Financing: CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2017-21170613, FONDECYT 1160202.

Cytotoxicity analysis of *Camellia sinensis* via *Artemia salina*

Luana Lima Vieira¹, Isabela Succi Castro Masiero², Luciana Matias Ferreira¹, Juliane Vismari de Oliveira^{1,2}, Guilherme Simões Pedro dos Santos², Fernando Luiz Affonso Fonseca^{2,3}, Luiz Carlos Martins das Neves⁴, Marina Ishii⁵, Flávia de Sousa Gehrke^{1,2}

(1) Instituto de Assistência Médica ao Servidor Público Estadual (IAMSPE), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rua Pedro de Toledo, 1800 - Vila Clementino, São Paulo, São Paulo, Brazil

(2) Centro Universitário Faculdade de Medicina do ABC (CU-FABC), Departamento de Patologia, Av. Lauro Gomes, 2000 - Vila Sacadura Cabral, Santo André, São Paulo, Brazil

(3) Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Farmácia, R. Prof. Artur Riedel, 275 - Jd. Eldorado, Diadema, São Paulo, Brazil

(4) Universidade Paulista (UNIP), Instituto de Ciências da Saúde, R. Dr. Bacelar, 1212 - Vila Clementino, São Paulo, São Paulo, Brazil

(5) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP), Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Butantã, São Paulo, São Paulo, Brazil

Introduction: The use of medicinal plants is increasingly common worldwide. Popularly, it is believed that medicinal plants have no side effects or toxicity and the data available in the literature are scarce. The infusion of Green Tea (*Camellia sinensis*) is one of the most popular beverages in the world, both for its therapeutic and food indications. It is known as Indian tea or green tea. Produced from the leaves and prepared as an infusion. The presence of compounds such as flavonoids, catechins, polyphenols, alkaloids, vitamins, and mineral salts act in reducing cholesterol levels, immunostimulatory, antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, antitumor, and energizing activities. Toxicity tests are designed to assess or predict toxic effects on biological systems and to measure the relative toxicity of substances. *Artemia salina* is a species of microcrustacean as know as brine shrimp of the order Anostraca that has long durability and can remain viable for long periods without the need to maintain continuous cultures of the organism. The use of *A. salina* is widely used to test toxicity in plant extracts and is considered a test that precedes the study of extracts and metabolites with potential biological activity. The World Health Organization (WHO) recognizes the test in *A. salina*. **Objective:** The goal of this work was to evaluate the toxicity potential of *C. sinensis* against *A. salina*. **Material and Methods:** The samples of *C. sinensis* were submitted to the processes of infusion, extraction with distilled water (1:10 m/v for 24 hours) and ethanol 98°GL (1:10 m/v for 7 days). Newly hatched *A. salina* was exposed to different concentrations of infusion, of the aqueous and ethanolic extracts of *C. sinensis* (1000 ug/mL, 750 ug/mL, 500 ug/mL, 250 ug/mL, 100 ug/mL, 50 ug/mL, 25 ug/mL and 10 ug/mL) for 24 hours and then the number of dead individuals was verified. **Results:** The lethal concentrations (LC50) identified for the species *C. sinensis* were in the infusion LC50= 638,3 µg/mL, in the aqueous extract LC50= 94,99 µg/mL and in the ethanol extract LC50= 5,78 µg/mL. **Conclusions:** Compounds that in concentration smaller than 1000 µg/mL cause the death of more than 50% of microcrustaceans (LC50) are considered toxic. Thus, the current study shows the severity of *C. sinensis* effects on aquatic microcrustaceans both in infusion and in extracts (aqueous and ethanolic). Furthermore, this information will aid the elucidation of the *C. sinensis* toxicity effect and the risk of popular use of this medicinal plant. **Keywords:** Acute Toxicity, Medicinal Plant, Green Tea, Brine shrimp

Financing: National Council for Scientific and Technological Development – CNPq

ONE HEALTH

Revisión sistemática de la situación de las Beta-lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en *Escherichia coli*: Un enfoque One Health para América del Sur

Víctor Hugo Valdez Vélez*¹, Andrés Montalvo*¹, Daniel Morales*¹

(1) Universidad de Las Américas (UDLA), Biotecnología, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Vía a Nayón 170124, Quito, Ecuador.

Introducción La resistencia a las enzimas es uno de los mayores problemas de salud pública actuales en todo el mundo debido a su rápida expansión y la generación de bacterias multirresistentes. Las enzimas CTX-M son las BLEE más extendidas, seguidas de TEM y SHV. Se sabe que en el mundo los estudios clínicos de BLEE en *E. coli* se han considerado con mayor relevancia, sin embargo, se desconoce un estudio con enfoque One Health en Sudamérica. **Métodos** Siguiendo la guía PRISMA, se realizó una búsqueda sistemática en la base de datos PubMed (5 de abril de 2021) para identificar estudios que contienen datos sobre *E. coli* portadora de BLEE en los países de América del Sur. Para obtener la información más actualizada, se incluyeron estudios en inglés, español y portugués, desde 1990 hasta la actualidad. Se establecieron criterios de inclusión / exclusión para la extracción de datos. **Resultados** De 500 artículos, 130 cumplieron los criterios de inclusión para esta revisión. Brasil fue el país con más publicaciones reportadas con 50% (n = 65/130) y los estudios clínicos fueron más estudiados con 52% (n = 68/130). La frecuencia / prevalencia de *E. coli*, fenotipo BLEE y genotipo BLEE a nivel de las matrices animal, alimentaria y ambiental fue muy superior en comparación con las fuentes humanas (clínica + comunidad). En los estudios clínicos, Brasil presentó la mayor diversidad en términos de BLEE, estando presentes las enzimas: CTX-M, TEM, SHV, TOHO, OXA y AmpC. En toda la región, las enzimas CTX-M fueron las variantes más frecuentes con 89,4% (n = 3309/3701). **Conclusiones** Es necesario un mayor aporte de los países de la región para dilucidar la situación de las BLEE en *E. coli* en América del Sur, especialmente en matrices comunitarias, animales, ambientales y alimentarias. La información presentada en esta revisión puede ser utilizada como base para la posterior ejecución de programas de control, apuntando a puntos críticos en la transmisión. *Aclaración: El presente trabajo fue realizado de manera igualitaria por los tres autores. Expone: Víctor Hugo Valdez Vélez.

DETECCIÓN MOLECULAR DE *Leishmania* spp. y *Ehrlichia* spp. EN PULGAS Y GARRAPATAS DE ANIMALES DOMÉSTICOS Y SILVESTRES DE LA RESERVA NATURAL DEL BOSQUE MBARACAYÚ

Oscar Salvioni¹, Miriam Rolón¹, Miriam Velázquez², Martín Kowalewski³, Celeste Vega¹, Jorge Miret⁴, Belén Natalini³, Paola Arze¹, Federico Pontón³, José Oliver¹, Berta Martínez⁴, **Milena Britos**¹

(1) Centro para el desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC), Asunción, Paraguay

(2) Fundación Moisés Bertoni (FMB), Asunción, Paraguay

(3) Estación Biológica Corrientes (EBCo), San Cayetano, Corrientes, Argentina

(4) Universidad Nacional de Canindeyú, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FCAA), Curuguaty, Paraguay

Introducción Las enfermedades transmitidas por vectores (EVA) son transmitidas por artrópodos y a nivel mundial tienen un impacto significativo en la salud humana y animal. La leishmaniosis y la ehrlichiosis son enfermedades transmitidas por vectores con un amplio espectro clínico y una variedad de parásitos, reservorios y vectores implicados en su transmisión. Aunque el perro es el principal reservorio de ambas enfermedades, otros animales pueden ser reservorios eficaces, pudiendo estar por tanto implicados en la transmisión. El objetivo de este estudio fue detectar molecularmente la presencia de patógenos relacionados con estas enfermedades en pulgas y garrapatas asociadas a reservorios domésticos y silvestres que se encuentran en la reserva natural del bosque Mbaracayú. **Método** Área de estudio: Reserva de Biósfera del Bosque Mbaracayú (RBBM) y comunidades indígenas aledañas del Dpto. Canindeyú (Paraguay). **Pulgas y garrapatas:** fueron colectadas de tres especies hospedadoras: armadillo, paca y perro doméstico. Los armadillos y pacas fueron capturados por técnicos Ache, mediante sus métodos tradicionales de búsqueda y captura. Los animales fueron anestesiados para la toma de ectoparásitos y finalmente liberados. Los perros domésticos fueron inspeccionados por veterinarios para la toma de muestras. Todos los ejemplares capturados fueron colocados en viales para su posterior procesamiento en el laboratorio. Previamente se obtuvo el consentimiento de la comunidad indígena para la realización de este estudio. **Extracción de ADN y amplificación por PCR en tiempo real:** la extracción y purificación de ADN de las pulgas y garrapatas fueron realizadas utilizando el kit Gene JET Genomic DNA Purification Kit® siguiendo las instrucciones del fabricante. Para confirmar la presencia de *Leishmania* spp. se amplificó un fragmento del gen de la proteína de choque térmico 70 (hsp70) utilizando los cebadores descritos por Zampieri et al. (2016). Para la obtención de *Ehrlichia* spp. se amplificó un fragmento del gen 16sRNA utilizando los cebadores descritos por Parola et al (2000). Todas las PCR se llevaron a cabo en el termociclador Rotor-Gene 6000® (QIAGEN) utilizando controles positivos en cada reacción. **Resultados** Se colectaron ejemplares de pulgas (*Ctenocephalides* spp) y garrapatas (*Rhipicephalus* spp) de 49 perros domésticos (*Canis familiaris*), 2 armadillos (*Dasyus novemcinctus*) y 1 paca (*Cuniculus paca*) que habitan en la RNBM y alrededores. En total se colectaron 57 ejemplares, 47 pulgas y 10 garrapatas, de las cuales 43 muestras fueron positivas molecularmente por PCR en tiempo a real (75%) para *Leishmania* spp., *Ehrlichia* spp. o ambas. De las 47 pulgas analizadas, 32 de ellas fueron positivas para *Leishmania* spp. (68%) y 18 para *Ehrlichia* spp. (38%), y del total de muestras positivas, 12 presentaron coinfección (38%). En cuanto a las garrapatas colectadas, 4 fueron positivas para *Leishmania* spp. (40%) y 1 para *Ehrlichia* spp. (10%). No se detectó coinfección en las garrapatas analizadas. **Conclusión** Un alto porcentaje de pulgas y garrapatas colectadas de animales domésticos y silvestres, de la zona de la reserva del Mbaracayú, se encuentran infectadas con *Leishmania* spp., *Ehrlichia* spp. o con ambos patógenos; que podría ser un riesgo para la salud humana.

Financing: Financiado con fondos del Proyecto PINV18-178 y 14INV-052 PROCIENCIA-CONACYT (Paraguay) y Proyecto FOCEM / MERCOSUR COF N ° 03/11

DIVULSUPERBAC: Divulgación y aprendizaje activo sobre superbacterias bajo una perspectiva One Health

Belén Fouz Rodríguez¹, María Martínez Solsona¹, María Consuelo Pina-Pérez¹, **Sergi Maicas**¹

(1) Universitat de València, Microbiología y Ecología, Ciencias Biológicas, Dr. Moliner, 50., Burjassot, Espanya

El proyecto DIVULSUPERBAC tiene como objetivos principales a) involucrar a estudiantes universitarios de la Universitat de València (UV) España, que actúan como divulgadores y estimuladores de la vocación científica del alumnado preuniversitario y b) concienciar a la comunidad educativa (alumnos, profesores, familias) sobre el problema sanitario representado por las bacterias multirresistentes a los antibióticos (superbacterias). Está concebido como una actividad de Aprendizaje-Servicio (ApS), continuación de las anteriores de nuestro equipo MicroMundo@València. La actividad seminal DIVULSUPERBAC consiste en una exposición de 14 infografías que el alumnado universitario (comisari@s) acerca a los centros educativos (12-14 por curso académico), en donde queda expuesta 1-2 semanas. La apertura se acompaña de una charla sobre el contenido de la exposición y se finaliza con una actividad de evaluación por parte de los comisari@s utilizando diferentes tecnologías. Los alumnos universitarios, supervisados por profesorado, realizan cuestionarios en grupos reducidos (tipo Kahoot, Trivial) con explicación de las respuestas, actividades escape room... basadas en los contenidos de la exposición. La actividad culmina con acciones complementarias en los centros educativos (cortometrajes, actividades ApS con niveles educativos inferiores...) y en sus entornos sociales (encuesta masiva para valorar el conocimiento del público generalista sobre el uso de antibióticos). Empleando estrategias colaborativas hemos conseguido transmitir conocimientos sobre el grave problema sanitario que representan las superbacterias a diferentes niveles educativos y sus respectivos entornos sociales, de una manera amena y rigurosa.

Financing: Proyectos Divulsuperbac UV-SFPIE_PID19-1096021 y UV-SFPIE_PID20-1353053, Universitat de València.

Detección y diferenciación de *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp utilizando como herramienta el análisis de la curva de melting a alta resolución (HRM)

Oscar Daniel Salvioni Recalde^{1,2}, María José Tintel¹, Miriam Soledad Rolón¹, Celeste Vega Gómez¹

(1) Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica-CEDIC, Manduvira 635, Asunción, Paraguay

(2) Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de Hanseníase, Rio de Janeiro, Brasil

Introducción: Dentro de los potenciales patógenos que pueden ser transmitidos por garrapatas se encuentran el orden Rickettsiales. Este orden alberga a géneros como *Anaplasma*, *Ehrlichia* y *Rickettsia*, todas bacterias Gram negativas e intracelulares obligadas, transmitidas en su mayoría por garrapatas duras (Acari: Ixodidae). El análisis de la curva de melting a alta resolución (HRM) ha sido utilizado en gran medida en los últimos años por su rapidez en cuanto a los análisis y la posibilidad de estudiar variabilidad genotípica. El objetivo del estudio fue evaluar el marcador 16S rRNA específico para bacterias de la familia Anaplasmataceae como herramienta para la detección y diferenciación de *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp en garrapatas de la especie *Rhipicephalus sanguineus* colectados de canes domésticos del área metropolitana de Asunción. **Metodología:** Para evaluar la técnica PCR-HRM se utilizó primers que amplifican un fragmento del gen 16S rRNA descritos por Parola et al (2000). Posteriormente, se realizó cinco reacciones de PCR en tiempo real independientes y por triplicado utilizando el termociclador Rotor-Gene 6000 (QIAGEN®). En todas las reacciones de PCR fue utilizado ADN de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys* como controles positivos obtenidos a partir de sangre de caninos naturalmente infectados confirmados por serología, microscopía, PCR y secuenciación. Para validar la técnica se evaluó la presencia de bacterias de la familia Anaplasmataceae en 36 garrapatas hembras adultas. **Resultados:** Los resultados obtenidos del valor de la temperatura de melting fueron promediados, siendo para *Ehrlichia canis* Tm 83.78 (C°) y para *Anaplasma platys* Tm 85.55 (C°). Los resultados fueron comparados con valores obtenidos de los análisis in silico y contrastados con los valores de los controles positivos. De los 36 ejemplares procesados 14 de ellos (38.9%) fueron compatibles con *Ehrlichia canis* y 3 ejemplares (8.3%) con *Anaplasma platys*. Todas las muestras positivas fueron purificadas y enviadas a secuenciar a la empresa MacroGen®, para confirmación de los resultados. **Conclusión:** La amplificación del marcador 16S rRNA y posterior análisis por HRM es una herramienta eficaz para la identificación de especies de la familia Anaplasmataceae. La presencia de estos patógenos en garrapatas colectadas de animales domésticos, estrechamente relacionados con los seres humanos, podría generar problemas en salud pública, por lo que es necesario evaluar implicancias en cuanto a factores de riesgos asociados a estos hallazgos

Financing: Fuente de financiación Proyecto FOCEM/MERCOSUR COF N°03/11 Programa Nacional de Becas de Postgrado en el exterior Don Carlos Antonio López-(BECAL) Programa Nacional de Incentivo a los Investigadores (PRONII)

Acinetobacter spp. aislado de un grupo de yeguas sanas pura raza chilena

Pamela Thomson Morales¹, Rodrigo Castro², Andrea Nuñez², Patricia García³, **Josefina Pareja**¹

(1) Laboratorio de Microbiología Clínica y Microbioma, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida Laboratorio, Universidad Andrés Bello.

(2) Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Talca. Chile.

(3) Departamento de Laboratorios Clínicos, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile

En los últimos años, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha alertado con respecto a la resistencia a los antibióticos. Según reportes e investigaciones de diferentes países, el grupo de prioridad crítica incluye bacterias multirresistentes, que son especialmente peligrosas en hospitales, entre los pacientes que utilizan dispositivos médicos; como catéteres intravenosos o sondas urinarias. Entre tales bacterias se encuentran: *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* y varias enterobacteriáceas, como *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Serratia*, y *Proteus*. Recientemente *Acinetobacter* spp. se ha convertido en una de las bacterias multirresistentes de mayor relevancia clínica en las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS). *Acinetobacter* spp., es un bacilo Gram negativo oportunista, responsable del 2 % al 10 % de las IAAS causadas por bacterias Gram negativas y en Latinoamérica alcanza el 5,3 % de todos los aislamientos de IAAS. Durante los últimos 35 años, han aparecido estudios que revelan que el útero no es una cavidad estéril. Actualmente, se ha reportado que la microbiota uterina de las yeguas, se encuentra compuesta por diferentes microorganismos, siendo *E. coli* el aislado con mayor frecuencia, en cultivos convencionales. El objetivo de este estudio fue aislar *Acinetobacter* spp. desde la cavidad uterina de un grupo yeguas sanas pura raza chilena. Para ello se analizó una muestra de biopsia, obtenida en fase ovulatoria desde el endometrio de cada animal, la cual fue triturada y sembrada en diferentes medios de cultivo. La identificación de los diferentes morfotipos fue realizada mediante MALDI-TOF. De las 21 yeguas muestreadas, se detectó *Acinetobacter* spp. en un 28,57%. La especie *Acinetobacter baumannii*, fue detectada 14,2% del total de las yeguas. Otros microorganismos igualmente fueron aislados: *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus equi*, *Brevundimona diminuta*, *Ochrobactrum anthropi*, *Escherichia hermannii*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Rhizobium* spp. *Acinetobacter* spp. fue aislado en un 28,57% de las yeguas. Esta información indica, que los animales y su entorno pueden convertirse en una fuente de origen de este tipo de microorganismos, los cuales pueden ser diseminados hacia otros animales y al ser humano. La proporción de bacterias multirresistentes que causan infecciones en animales ha aumentado continuamente y el conocimiento sobre *Acinetobacter* spp. multirresistente en medicina veterinaria es escaso, por lo que sería importante continuar con estudios al respecto.

Aprendizaje-servicio sobre resistencias antimicrobianas en la Comunidad Valenciana (España) a través de una estrategia diversificada

Sergi Maicas¹, Belén Fouz¹, Àngela Figàs-Segura¹, Jesús Zueco², Hortensia Rico², Alfonso Navarro³, Ester Carbó⁴, Jaume Segura-Garcia⁵, Elena G. Biosca¹

(1) Universitat de València, Microbiología y Ecología, Ciencias Biológicas, Dr. Moliner, 50, Burjassot, España

(2) Universitat de València, Microbiología y Ecología, Farmacia, Vicent Andrés Estellés, Burjassot, Espanya

(3) Universitat de València, Microbiología y Ecología, Medicina y Odontología, Blasco Ibáñez, 15, València, España

(4) Universitat de València, Biología Vegetal, Facultad de Farmacia, Avda. Vicent Andrés Estellés, Burjassot, España

(5) Universitat de València, Biología Vegetal, Farmacia, Vicent Andrés Estellés, Burjassot, Espanya

El uso indebido de los antibióticos supone una seria amenaza para la salud mundial por la aparición de cepas resistentes en numerosos patógenos bacterianos, lo que dificulta el tratamiento de las infecciones que causan. MicroMundo surgió como un programa de enseñanza activa, basado en una estrategia de Aprendizaje-Servicio, con el objetivo de motivar a los estudiantes preuniversitarios a cursar carreras científicas y también a descubrir nuevos microorganismos productores de antimicrobianos. MicroMundo@València se implementó en la Universitat de València durante los cursos 2017-2018 y 2018-2019, permitiendo formar a 140 estudiantes universitarios para aplicar esta iniciativa en 23 institutos de educación secundaria/bachillerato. Se obtuvo una colección de 7002 aislados bacterianos de muestras de suelo de distintos orígenes geográficos que se analizaron para detectar fenómenos de antibiosis. Alrededor del 1% o el 7% de estos aislados fueron capaces de inhibir el crecimiento de cepas bacterianas diana de *Escherichia coli* o *Bacillus cereus*, respectivamente. La geolocalización de los sitios de muestreo mediante una aplicación desarrollada ad hoc y el posterior análisis permitieron la detección de focos de bacterias productoras de antibióticos. La evaluación del programa por los estudiantes participantes evidenció una notable percepción positiva y un mayor interés por la ciencia, al adquirir nuevos conceptos y habilidades científicas y pedagógicas que pudieron transmitir a otros compañeros, estudiantes más jóvenes o familiares. La difusión del proyecto en la Comunidad Valenciana (España) se complementó con actividades extrauniversitarias, dirigidas a diferentes grupos de edad y con perspectiva de género, obteniendo resultados muy satisfactorios.

Financing: Proyectos de Universitat de València: Unidad de Igualdad (2018-2020), INNOV-17/18- SPL_330, UV-INNOV-18/19-SPL_330, SFPIE_R588199, SFPIE_RMD18_839102, SFPIE_GER18- 844761, SFPIE_RMD18_954062, SFPIE_PID19-1096784 y SFPIE_PID19_1096021.

Primer reporte molecular de *Rickettsia* spp en *Amblyomma sculptum* de vida libre colectados en la Reserva Natural del Bosque Mbaracayú-Paraguay

Oscar Daniel Salvioni Recalde^{1,2}, Miriam Soledad Rolón¹, Myriam Celeste Velázquez³, Milton Ozório Moraes², Celeste Vega Gómez¹

(1) Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica-CEDIC, Manduvira 635, Asunción, Paraguay

(2) Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de Hanseníase, Rio de Janeiro, Brasil

(3) Fundación Moisés Bertoni, Asunción, Paraguay

Introducción: Las *Rickettsias* son bacterias Gram negativa intracelulares obligatorias transmitidas por artrópodos vectores, siendo en América latina el género *Amblyomma* el mayoritariamente reportado. Presentan una distribución global y es considerada una enfermedad zoonótica de carácter febril y de alta letalidad para el ser humano. Las manifestaciones clínicas que presenta son muy semejantes a enfermedades como dengue, zika y chikungunya, en ese contexto y considerando la importancia de estudiar a estas bacterias, el presente estudio tuvo como objetivo investigar la presencia de *Rickettsia* spp en garrapatas de vida libre. **Metodología:** Se realizó la búsqueda y colecta de garrapatas de vida libre en los meses de febrero, marzo y abril del año 2021 en la Reserva Natural del Bosque Mbaracayú utilizando el método de búsqueda activa. Cada ejemplar colectado fue almacenado en etanol al 70% y transportado al laboratorio. Los ejemplares fueron procesados para la obtención del material genético utilizando kit con columnas comerciales, previa clasificación taxonómica con el uso de claves. Los ejemplares en estado larval fueron procesados en pool de 10 ejemplares y 1 pool de 13. La detección molecular de la presencia de *Rickettsia* spp se llevó a cabo amplificando un fragmento de 401pb del gen *gltA* (Labruna et al; 2004). La PCR en tiempo real se realizó en un termociclador Rotor-Gene 6000 (QIAGEN®) utilizando como control positivo ADN de *R. rickettsii* cedidos por el PECET. Los productos amplificados fueron purificados y secuenciados por la empresa MacroGen® y las secuencias resultantes analizadas con el software BioEdit. **Resultados:** En total se colectó 182 ejemplares de garrapatas de las cuales, 36 fueron adultos (23 Hembras y 13 Machos), 3 ninfas y 143 larvas. Los ejemplares adultos fueron identificados como *Amblyomma sculptum* y las larvas como *Amblyomma* spp. Del total, dos ejemplares hembras adultas fueron positivas para *Rickettsia* spp (2/182). Los resultados obtenidos por secuenciación y posterior búsqueda por similitud usando la base de datos GenBank confirmó los resultados obtenidos por PCR. **Conclusión:** Los resultados del presente estudio confirmaron la presencia del género *Rickettsia* spp en *Amblyomma sculptum*, siendo además el primer reporte en el país de esta especie de garrapatas en estado de libre conteniendo bacterias de este género.

Financing: Fuente de financiación Proyecto PINV18-178 PROCIENCIA-CONACYT (Paraguay)Proyecto FOCEM/MERCOSUR COF N°03/11Programa Nacional de Becas de Postgrado en el exterior Don Carlos Antonio López-(BECAL)Programa Nacional de Incentivo a los Investigadores (PRONII)

Leptospirosis en Uruguay: poblaciones equinas y referentes humanos.

Paulina Meny¹, Cristina Ríos², Tamara Iglesias¹, Clara Menéndez¹, Jair Quintero¹, Oscar Ferreira², Gustavo Varela¹, Felipe Schelotto¹

(1) Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la Republica, Av. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

(2) Área Salud Pública Veterinaria, Departamento Salud Ambiental y Legislación Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Universidad de La Republica, Alberto Lasplacas 1550, Montevideo, Uruguay

Introducción: En Uruguay, la leptospirosis en equinos es poco atendida, frecuentemente sospechada pero raramente confirmada en el laboratorio, y muchas veces asintomática. Tiene impacto potencial importante para quienes realizan múltiples tareas con ellos. Nos planteamos investigar su presencia y difusión en equinos y trabajadores en contacto con ellos en distintos establecimientos y ámbitos laborales del país. **Metodología:** En 72 establecimientos se obtuvieron 891 sueros equinos (de predios ganaderos 297, Haras 166, Studs 130, Remonta militar 147, Frigoríficos 151) y 212 orinas para cultivo de cepas infectantes. También se obtuvieron 150 sueros de trabajadores. Para equinos se realizó MAT con los serogrupos Ballum, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Pomona, Tarassovi y Sejroe (Wolffi, Hardjo, Hardjobovis). Se consideraron positivos títulos ≥ 100 , y títulos ≥ 200 sugestivos de infección incipiente o reciente. Para sueros de trabajadores se utilizó un panel amplio de 17 serogrupos, y se practicó Inmunofluorescencia indirecta para IgM específica. Títulos ≥ 200 o IF+ fueron indicadores de infección presente o pasada. Se registraron condiciones ambientales, de cría y manejo de los equinos en cada establecimiento, y de cada trabajador información epidemiológica vinculada a esta enfermedad. Las orinas se sembraron en medio EMJH y la identificación molecular fue por PCR tiempo final con cebadores Lip132, por MLVA, y secuenciación parcial del gen rrs. **Resultados:** En equinos se observó una reactividad de 60.94%: 40.18% con serogrupo Icterohaemorrhagiae, 15.26% con Sejroe; 11.11% con Canicola; 10.21% con Pomona y 9.87 con Ballum. Los ejemplares de frigoríficos (70.20%) y predios ganaderos (70,71%) fueron los más frecuentemente positivos. 29.18% de los animales tuvieron títulos ≥ 200 . La edad de los positivos fue significativamente mayor que la de no reactivos. Se registraron animales con antecedentes como problemas reproductivos, oculares y otros; sus sueros fueron reactivos en proporción muy similar a la de equinos sin patología consignada. De las orinas se recuperó un solo cultivo positivo, que se identificó como *Leptospira interrogans* serogrupo Canicola. Solo en tres de 150 trabajadores se observaron títulos de 200 con serogrupos Icterohaemorrhagiae o Canicola, sin sintomatología asociada reciente y con IF-IgM negativa, sugiriendo infección pasada inadvertida. Los equinos a su cuidado eran positivos para los mismos serogrupos, indicando posible origen común de la infección o infección de origen equino. El intercambio con los trabajadores sobre la Leptospirosis, su epidemiología, clínica, factores de riesgo, dudas y miedos de las personas expuestas, resultó útil para los trabajadores, los investigadores y el personal técnico a cargo. **Conclusiones y perspectivas:** Se estudió una muestra numerosa de equinos, prolijamente diseñada según grupos de actividad, y se observó en ellos una reactividad alta, mayor que la observada en bovinos, pudiéndose deber a una infección presente o pasada. Los serogrupos reactivos son similares a los informados en la región. En trabajadores no se evidencia un contagio frecuente, pero el vínculo estrecho trabajador-animales y la presencia de *Leptospira* en éstos pueden ser factores de riesgo para esta enfermedad. Se obtuvo un primer aislamiento nacional de origen equino, y se requiere ampliar las tareas de cultivo para identificar las cepas circulantes en el medio.

Financing: Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), Universidad de La República

Detección de cepas de *Staphylococcus* sp resistentes a la meticilina aisladas de perros y gatos

Pamela Thomson Morales¹, Andrea Nuñez², Agustín Cartes³, Patricia García⁴

(1) Laboratorio de Microbiología Clínica y Microbioma, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida. Laboratorio, Universidad Andrés Bello.

(2) Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás. Talca, Chile.

(3) Hospital Clínico Veterinario, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Laboratorio, Universidad Andrés Bello.

(4) Departamento de Laboratorios Clínicos, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile

La resistencia antimicrobiana (RAM) se ha convertido en una amenaza para la salud humana y animal, pese a ello la mayoría de las intervenciones médicas complejas, son posibles gracias a los tratamientos con antibióticos; pero la diseminación de microorganismos resistentes nos expone a la posibilidad de que simples heridas o infecciones puedan ser fatales. Las infecciones por bacterias resistentes producen una mayor morbilidad, mortalidad y hospitalizaciones más prolongadas. Dado el rol que tiene *Staphylococcus* sp en la salud humana y animal, es necesario investigar para generar directrices que aporten al tratamiento de infecciones generadas por estos agentes. La resistencia intrínseca a meticilina en cepas de *Staphylococcus* sp. se describe como el principal mecanismo de resistencia a β -lactámicos y el más importante desde el punto de vista clínico. El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de cepas de *Staphylococcus* sp. resistentes a la meticilina aisladas de perros y gatos. Se realizó un muestreo desde la nariz de perros (60) y gatos (60) sanos. Cada torulado fue sembrado en agar sal manitol y agar sangre. Los diferentes morfotipos fueron identificados mediante MALDI-TOF y se determinó la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco. Interesantemente fueron identificadas cepas de *Staphylococcus* coagulasa positivo y coagulasa negativo. Se detectó un perfil de resistencia a la meticilina, en más de un 50% de las muestras obtenidas tanto de perros como en gatos. Se necesita una mayor comprensión de las prácticas de uso de antibióticos y la dinámica de la RAM en animales y el rol que pueden ejercer sobre la posible propagación de la RAM a los seres humanos. Además de concientizar acerca de la existencia de estas cepas y su implicancia en la salud animal y humana.

Financing: Fondos de investigación PURINA 2020

Transfer of a gentamicin resistance plasmid from a canine *Staphylococcus pseudintermedius* strain to a human *Staphylococcus aureus* strain

Thaysa Souza-Silva¹, **Ciro César Rossi**¹, Ana Luisa Andrade-Oliveira¹, Marcia Giambiagi-deMarval¹

(1) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Microbiologia Médica, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Cidade Universitária - UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil

The intimate relationship between pets and owners is a common source for the trade of microorganisms, including bacteria resistant to multiple antimicrobial drugs with zoonotic potential. Our group has been demonstrating that *Staphylococcus* of different species and sources exchange antimicrobial resistant genes (ARGs), which is facilitated by biofilm formation, leading to an environment of high cell density and increased availability of mobile genetic elements (MGEs), mainly plasmids. In this work, we evaluated the presence of ARGs that are usually present in MGEs in 80 *Staphylococcus* strains isolated from domestic dogs with otitis externa, pyoderma or healthy, belonging to the following species: *Staphylococcus pseudintermedius* (n=49), *Staphylococcus schleiferi* (n=29), *Staphylococcus sciuri* (n=1) and *Staphylococcus simulans* (n=1). Resistance to tetracycline was observed in 34% of the strains, followed by resistance to erythromycin (21%) and gentamicin (19%). The phenotypes were partially related to the presence of tetracycline resistance genes *tetM* and *tetK* in 64% and 44% of the strains, respectively; erythromycin resistance genes *ermA* and *ermC* in 53% and 23%; and gentamicin resistance gene *aacA-aphD* in 26% of the strains. All strains can form biofilms, being 50% strong or moderate producers, as observed by the crystal-violet method. Plasmid extraction revealed that at least 45% of the strains harbored high- and low-molecular weight plasmids. From those, we selected eight plasmid-bearing and multidrug resistant strains, which were submitted to plasmid curing experiments by cultivating them for multiple generations while submitted to stress with SDS (100 µg/mL). No strain lost resistance during SDS stress, which may be due to a high number of copies or mechanisms to avoid curing. However, one plasmid from the *S. pseudintermedius* strain 27 was successfully transferred to *Staphylococcus aureus*, which acquired resistance to gentamicin alongside the *aacA-aphD* gene, as detected by PCR. The MIC for gentamicin was 10 times higher in the transconjugant strain than in the original recipient. The frequent empirical use of gentamicin to treat skin and ear infections in domestic dogs is likely to select resistant strains that, as shown by our study, can be transferred to *S. aureus*, a human pathogen

Financing: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)

Detección de *Leptospira* spp. en perros de caza de la ribera del río Napo.

Diego Guzmán¹, Carolina Sáenz², Hernán Álvarez³, Rubén Cueva³, Galo Zapata-Ríos³, Belén Prado-Vivar¹, Eduardo Díaz², Verónica Barragán¹

(1) Instituto de Microbiología, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales (COCIBA), Universidad San Francisco de Quito, Diego de Robles S/N y Pampite, Quito, Ecuador

(2) Hospital de Fauna Silvestre TUERI, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad San Francisco de Quito, Diego de Robles S/N y Pampite, Quito, Ecuador

(3) Wildlife Conservation Society, Ecuador program, Av. Eloy Alfaro N37-224 y Coremo, Quito, Ecuador

La leptospirosis es una enfermedad emergente de distribución mundial que se transmite naturalmente desde animales a humanos y es producida por una bacteria que pertenece al género *Leptospira*. El contacto con la orina, suelo o agua contaminada son las principales formas de contraer leptospirosis. Casi todas las especies de mamíferos y marsupiales pueden ser portadores y excretores de *Leptospira*, convirtiéndose en una fuente de riesgo para las infecciones humanas y de animales. Sin embargo, poco se conoce sobre la circulación del patógeno en zonas rurales, en donde la interacción del ser humano con otros animales y ambiente es más estrecha. La Amazonía ecuatoriana, un lugar con niveles excepcionales de diversidad biológica, podría ser un sitio idóneo para comprender la epidemiología de la leptospirosis. El objetivo de este trabajo es entender la circulación de *Leptospira* spp. en la ribera del río Napo, utilizando como animal centinela a los perros domésticos que apoyan la caza de subsistencia en las comunidades Kichwa que habitan el lugar. En este estudio se evaluaron 53 perros domésticos de las comunidades Kichwa que habitan en cinco comunidades de la ribera del río Napo. Muestras de suero se obtuvieron a partir de 48 perros y fueron analizadas mediante la técnica de aglutinación (MAT), también se recolectaron muestras de orina de 19 de los 53 perros. Las muestras de orina se analizaron mediante qPCR utilizando el gen *Lipl32* para la detección de *Leptospira* patógena. Además, en las muestras de orina positivas se identificaron la especie de leptospira mediante el secuenciamiento del gen 16S rDNA con la plataforma MinION (Oxford Nanopore). En 36 (75%) de los 48 sueros analizados se detectaron anticuerpos anti-leptospira mediante MAT (títulos ≥ 100). Veinte de los sueros positivos tenían un serovar predominante: Australis (3), Canicola (2), Grippotyphosa (1), Hardjo (1), Pyrogenes (3), Saxkoebing, (2), Sejroe (1), Shermani (1), Tarassovi (4), Wolffi (2); y en las 16 muestras se observó reacción cruzada con múltiples serovares. En las muestras de orina de 13 de los perros seropositivos se detectó ADN de *Leptospira* spp. mediante qPCR. Adicionalmente, se logró detectar ADN del patógeno en las 3 muestras de perros en las que no se pudo recuperar suero y en 2 muestras que dieron MAT negativo. El secuenciamiento del gen 16S rDNA permitió identificar 3 diferentes especies de *Leptospira* patógena en 15 de las muestras positivas: *L. santarosai* (10), *L. noguchii* (4) y *L. interrogans* (1). Los resultados muestran la circulación de este patógeno en los perros que apoyan la caza de subsistencia de animales silvestres en el Parque Nacional Yasuní, lo que sugeriría la circulación del patógeno también en los animales silvestres. Adicionalmente, la excreción de *Leptospira* en la orina de los perros sugiere que estos animales juegan un papel importante como transmisores y reservorios de leptospirosis.

Financing: Este trabajo es financiado por la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) y por Wildlife Conservation Society (WCS)

PRESENCIA DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN ANIMALES SILVESTRES BAJO CUIDADO HUMANO EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE ANIMALES SILVESTRES DE ITAIPU BINACIONAL (CIASI)

Ricardo Almiron¹, Thomas Goossen¹

(1) Itaipu, Centro de Investigación de Animales Silvestres, Supercarretera Hernandarias, Hernandarias, Paraguay

Los zoológicos y acuarios representan una oportunidad para la generación de información sobre la medicina de especies silvestres. Escenarios que ocurren en estos animales bajo cuidado humano, especialmente aquellos que involucran la salud, podrían darse también en poblaciones silvestres de vida libre. Además, en los zoológicos se produce un estrecho contacto en la interfaz humano-fauna silvestre. Por lo tanto, la vigilancia de microorganismos potencialmente patógenos para alguna de las partes es de gran importancia para el enfoque One Health. Una de las medidas para esta vigilancia es el control de parásitos gastrointestinales en los animales silvestres, que forma parte del programa de medicina preventiva de especies silvestres bajo cuidado humano del CIASI. Entre octubre de 2020 y junio de 2021 se colectaron muestras de heces de diferentes especies, de las cuales se obtuvieron resultados positivos en las siguientes: carnívoros (*Nasua nasua*, *Lontra longicaudis*, *Panthera onca* y *Puma concolor*), pilosos (*Myrmecophaga tridactyla* y *Tamandua tetradactyla*), roedores (*Hydrochoerus hydrochaeris*, *Dasyprocta azarae* y *Myocastor coypus*), artiodáctilos (*Tayassu pecari*, *Pecari tajacu*, *Catagonus wagneri* y *Mazama nana*), perisodáctilos (*Tapirus terrestris*), struthioniformes (*Rhea americana*), psittaciformes (*Ara ararauna*, *Ara chloropterus*, *Amazona aestiva* y *Psittacara leucophthalmus*) galliformes (*Crax fasciolata*), squamata (*Hydrodynastes gigas*) y testudines (*Chelonoidis carbonaria*). Las muestras fueron analizadas mediante observación microscópica directa y mediante uno de los siguientes métodos: flotación por Sugar Sheather, Willis, Faust o mediante centrifugación por método de Ritchie modificado. Como resultado de los análisis, y teniendo en cuenta el porcentaje de especies hospedadoras, se ha detectado la presencia de coccidios (31,8%), *Balantidium* spp. (27,2%), uncinarias (27,2%), *Strongyloides* spp. (40,9%), *Trichuris* spp. (13,6%), *Ascaris* spp. (4,5%), *Capillaria* spp. (4,5%), *Taenia* spp. (4,5%), *Oxyuris* spp. (4,5%), *Entamoeba* spp. (4,5%) y *Nyctotherus* spp. (4,5%). Considerando la diversidad de los parásitos detectados (11), la mayor riqueza de estos se detectó en artiodáctilos (6/11), seguidos por roedores (5/11), testudines (4/11), carnívoros (3/11), Squamata (2/11), perisodáctilos (2/11), struthioniformes (2/11), pilosos (1/11), psittaciformes (1/11), y galliformes (1/11). El estudio de la relación parásito-hospedador y el aumento de conocimiento de organismos que parasitan a la fauna silvestre puede ayudar a identificar los orígenes del contacto en la interfaz humano-fauna silvestre y las actividades que propician la transmisión y las parasitosis accidentales, aportando a los esfuerzos en salud pública y a la generación de estrategias de prevención basadas en el paradigma One Health. En este sentido, los zoológicos y acuarios cumplen un rol fundamental al ofrecer datos y posibilidades de investigación que ayuden a llenar los vacíos de información en el estudio de la medicina de animales silvestres y su relación con los humanos.

Financing: La realización de este proyecto utilizó materiales y equipamiento ya disponibles en el laboratorio, no se generaron mayores gastos para el procesamiento y análisis de muestras.

Identification and antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. isolated from a swine waste treatment plant

Priscila Silva¹, **Ciro Rosi**¹, **Camila Dias**², **Silvana Silva**², **Marcia Giambiagi-deMarval**¹

(1) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Microbiologia Médica, UFRJ, Avenida Carlos Chagas Filho, 373 - Cidade Universitária, Rio de Janeiro, Brazil

(2) Universidade Federal de Ouro Preto, Departamento de Ciências Biológicas, UFOP, Campus Morro do Cruzeiro s/n, Ouro Preto, Brazil

Pig farming is an important activity for the economy of Brazil, which is one of the largest pork producers in the world. In Brazil, some classes of antibiotics are allowed to be used as growth promoters; however, this practice may favor the selection of antimicrobial resistant bacteria. The use of biodigesters for swine manure treatment is widespread and occurs in rich and developing countries. Consequently, waste from these treatment systems can be a source of spread of antimicrobial resistant bacteria and the related antimicrobial resistance genes, as previously observed. Bacterium of the *Staphylococcus* genus colonize the skin and mucous membranes of humans and animals, and are often associated with opportunistic infections besides being able to carry resistance genes. The One Health concept involves the association of human, animal and environmental health and the responsible use of antimicrobials in human and animal health is important to avoid the selection and spreading of resistant bacteria. For this reason, the objective of this work is to analyze the species distribution and antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus* species along different points of a swine manure treatment plant. The source treatment system for the isolation of *Staphylococcus* spp was an anaerobic biodigester, followed by a facultative pond and the final effluent was used as a biofertilizer in the surrounding soil. A total of 116 isolates suspected of belonging to the genus *Staphylococcus* were isolated using mannitol salt agar. Catalase test and Gram staining were initially performed. Identification of the isolates' species was made by mass spectrometer analysis MALDI-TOF (MALDI Biotyper CA System). Ten species were identified: *Staphylococcus cohnii* (28), *Staphylococcus simulans* (25), *Staphylococcus arlettae* (3), *Staphylococcus equorum* (5), *Staphylococcus xylosum* (5), *Staphylococcus nepalensis* (5), *Staphylococcus lentus* (3), *Staphylococcus saprophyticus* (6), *Staphylococcus warneri* (1), and *Staphylococcus sciuri* (1). Ten samples were discharged for not belonging to the genus *Staphylococcus*, and the others (24) are still in the process of confirming the species. To determine the antimicrobial susceptibility profile, nine antimicrobials were tested by the agar diffusion method using BrCAST/EUCAST recommendations. The isolates did not show resistance to mupirocin, however they were resistant to other antibiotics tested chloramphenicol (97%), ciprofloxacin (44%), erythromycin (82%), gentamicin (55%), tetracycline (81%), sulfamethoxazole-trimethoprim (12%), linezolid (1%) and ceftiofur (16%). Interestingly, chloramphenicol has been banned as a food additive since 2003 in Brazil, tetracycline since 2009 and erythromycin since 2012. Our results suggest that the swine *Staphylococcus* spp. isolates could be a steady reservoir of the antimicrobial related genes since the phenotypic resistance was detected in strains isolated in 2017 and 2018. In addition, our next step is to correlate the observed phenotypic resistance with the presence of resistance genes.

Financing: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ

MICROBIOLOGÍA VETERINARIA

EFFECTOS DE EXTRACTOS DE PLANTAS EN LA FORMACIÓN DE BIOFILM DE *Escherichia coli* PRODUCTORES DE TOXINA SHIGA (STEC)

Melisa Florentin¹, Claudia Salinas¹, Fátima Rodríguez¹, Olga Coronel², Andrea Cáceres², Diana Bazán², Nelson Alvarenga², Rosa Guillén¹

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Microbiología, Mcal. Lopez, Campus Universitario. UNA, San Lorenzo, Paraguay

(2) Departamento de Fitoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Mcal. López, Campus Universitario. UNA, San Lorenzo, Paraguay

Introducción: El ganado bovino es el principal reservorio de las STEC, estas bacterias pueden tener la capacidad de formar biofilm en alimentos y otras superficies, aumentando su potencial de contaminación, resistencia a antibióticos y desinfectantes, como persistencia en el ambiente establecido, siendo un problema grave de seguridad alimentaria. Lograr alternativas como aquellos provenientes de plantas para combatir esta problemática podría tener un impacto significativo. **Objetivo:** Evaluar la actividad de 20 extractos metanólicos de diferentes plantas, frente a la formación de biofilm de 4 aislados STEC representativos de ganado bovino paraguayo. **Metodología:** En este estudio experimental se analizó la actividad inhibidora de la formación de biofilm mediante un ensayo estandarizado en placa de poliestireno con tinción de cristal violeta. Se utilizaron 4 STEC de serogrupos O54, O22, O74 y O115 aislados de ganado bovino paraguayo y 20 extractos metanólicos de plantas nativas, utilizando concentraciones sub-inhedoras de 10mg/mL y diluciones seriadas en aquellos extractos que resultaron inhibidores de biofilm en los 4 aislados. **Resultados:** Los extractos metanólicos de *Sidastrum paniculatum*, *Ocotea diospyrifolia* y *Aloysia virgata* lograron inhibir entre el 93 al 100% la formación de biofilm de los 4 aislados STEC analizados a 10 mg/mL, siendo categorizados como excelentes inhibidores. La inhibición del biofilm de estos extractos mostró patrones con efecto dosis-respuesta dependiente. Los demás extractos vegetales analizados resultaron con actividad variable, en algunos casos incluso inductores de la formación de biofilm. **Conclusión:** Los hallazgos son prometedores para posteriores estudios orientados a la identificación de los compuestos responsables de la excelente actividad inhibidora de la formación de biofilm. Lograr alternativas para combatir esta problemática con la utilización de compuestos provenientes de plantas podría tener un impacto significativo. **Palabras clave:** STEC, biofilm, bovinos, extractos vegetales

Financing: Los resultados de este trabajo corresponden al proyecto PINV18-1005 financiado por el Consejo Nacional de Ciencias y Tecnologías (CONACYT)

Estado actual de las Colecciones de Microorganismos vinculadas a Sanidad Animal y/o Pública presentes en el INTA, Argentina.

Valeria Salazar^{1,2}, Romanela Marcellino^{1,3}, Verónica Neder¹, Mario Soria¹, Valeria Baldone¹, Andrea Pécora¹, Bibiana Brihuega¹, Mara Martinez¹, Carla Pertile¹, Néstor Sarmiento¹, Andrea Fiorentino^{1,2}, Fernando Paolicchi^{1,2}, Andrea Verna¹, Enrique Louge Uriarte¹, Juan Poo¹, Alejandro Perticari¹

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina

(2) Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Balcarce, Argentina

(3) IFAB (INTA - CONICET), Argentina

Los recursos microbianos son un componente estratégico dentro de la biodiversidad global, donde su variabilidad genética como respuesta ya sea al manejo antrópico o eventos de cambio climático, constituyen hitos de adaptabilidad que deben ser considerados. Por tal motivo se considera fundamental su preservación para conocimiento y trazabilidad presente y futura, tal es el caso de microorganismos que pueden producir diferentes enfermedades en animales y en el hombre, por tratarse muchas de ellas de zoonosis. En el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) se ha generado una Red de RRG y dentro de esta una destinada a los Recursos Microbianos con la finalidad de compatibilizar protocolos de preservación, documentación, intercambio y adecuación de permisos de acceso vinculados al Protocolo de Nagoya. Con el objetivo de conocer el estado actual de las colecciones vinculadas a Sanidad Animal se ha realizado un relevamiento a nivel nacional. Integrando la red se encuentran hasta el presente 10 colecciones y 2 bancos de células vinculados a la conservación. Alrededor de 11000 entradas documentadas. Con 41 géneros bacterianos, 3 de protozoarios, 1 de hongos micotoxigénicos, 34 tipos de virus y 30 líneas celulares. Las especies más representadas son *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Tritichomonas*, *Anaplasma*, *Brucella*, *Babesia*, *Corynebacterium* y *Leptospira*. Un 90% de las colecciones utiliza el nitrógeno líquido para la conservación y como método de respaldo se utiliza ultrafrío a -80°C y/o liofilización. Los patógenos conservados representan casi la totalidad de los agentes etiológicos que producen enfermedades en los animales de producción presentes en nuestro territorio. El 60% de lo conservado corresponde a enfermedades de bovinos, un 30% a sanidad aviar, un 8% a sanidad de ovinos y el resto a enfermedades de caprinos, zoonóticas y de otras especies animales. Se ha realizado un mapa interactivo con la ubicación geográfica de cada colección.

Financing: Este trabajo fue financiado por el Proyecto Institucional del INTA RIST I112.

Investigação de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães na região de Santa Maria, RS, Brasil

Bruna Carolina Ulsenheimer¹, Ana Eucares Von Laer², Alexandre Alberto Tonin³, Sônia de Avila Botton⁴

(1) Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Medicina Veterinária, Santa Maria, Brasil

(2) Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Ciências da Saúde, Santa Maria, Brasil

(3) Universidade Federal de Santa Maria, Colégio Politécnico, Santa Maria, Brasil

(4) Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Medicina Veterinária, Santa Maria, Brasil

A leptospirose é uma doença bacteriana infectocontagiosa de caráter zoonótico, causada por *Leptospira* spp. que pode acometer animais domésticos, silvestres e o homem. É uma importante enfermidade de ocorrência mundial, sendo responsável por considerável impacto econômico e na saúde pública. Neste estudo, objetivou-se analisar a frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães com suspeita clínica de leptospirose, provenientes da região de Santa Maria, localizada no centro do estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil, no período de 2010 a 2020. No estudo foram analisadas 520 amostras de soros sanguíneos, empregando-se a técnica de Soroaglutinação Microscópica, possibilitando a diferenciação de sorogrupos, bem como títulos sorológicos. A coleção de antígenos vivos utilizados incluiu os sorogrupos: Sejroe, Grippotyphosa, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Australis, Pomona e Autumnalis. Do total de soros avaliados, 426 apresentaram anticorpos contra *Leptospira* spp., representando uma frequência de 82%, com títulos variando de 100 a 1600. Os sorogrupos que apresentaram a maior prevalência em cães, foram Icterohaemorrhagiae (38%), Autumnalis (20%), Canicola (17%) e Australis (12%). Destaca-se o sorogrupo Icterohaemorrhagiae, ao qual fazem parte os sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae, reconhecidamente como os mais severos patologicamente para humanos e cães, o que causa preocupação devido aos riscos à saúde pública. Quanto aos títulos, foi observado que os mais significativos foram os de 100 e 200, demonstrando presença de baixos níveis de anticorpos entre os animais avaliados, o que pode significar que estes estavam em fase aguda da doença, ou que foram vacinados há um período superior a três/seis meses. As observações consideradas neste estudo, quanto as diferenças de soroprevalência são excepcionalmente representativas, visto que, do ponto de vista de manutenção da infecção, transmissão do agente e patogenicidade para o próprio animal, as bactérias são eliminadas na urina e o tempo de excreção varia individualmente, dependendo do sorovar infectante. Portanto, os resultados desta pesquisa possuem relevância em um contexto de saúde única, pois esta doença deve ser diagnosticada, controlada e prevenida, uma vez que a eliminação de *Leptospira* spp. por cães infectados pode ser um risco potencial de contaminação do ambiente, bem como demais espécies animais e das pessoas.

Financing: Os autores gostariam de agradecer as agências brasileiras de desenvolvimento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (financial code 001).

ANÁLISIS COMPARATIVO DE BIOMARCADORES INMUNES EN BOVINOS CON DIFERENTE RESPUESTA INMUNITARIA A *Mycobacterium bovis*

Laura Jaramillo-Meza¹, Fernando Díaz Otero¹, Anabelle Manzo Sandoval¹

(1) CENID-Salud Animal e Inocuidad-INIFAP, Laboratorio de Bacteriología Experimental, Carretera Federal México-Toluca Km 15.5 Col. Palo Alto C.P. 05110 Alcaldía Cuajimalpa de Morelos, Ciudad de México, México

En la tuberculosis bovina se han observado diferentes patrones de respuesta inmune acorde al progreso de la enfermedad, llegando hasta la no respuesta o anergia que se presenta en los estados avanzados de la enfermedad. El propósito del estudio fue realizar un análisis comparativo de las subpoblaciones de linfocitos T, producción de citocinas y niveles de inmunoglobulinas IgG1 e IgG2 en bovinos tuberculosos con diferente respuesta inmunitaria a *Mycobacterium bovis*. Para ello, se seleccionaron y agruparon vacas acorde al patrón de respuesta a las pruebas diagnósticas de tuberculina cervical comparativa PTCC, producción de IFN- γ y ELISA comparativa, se formaron cuatro grupos: el Grupo 1, positivo a la PTCC, IFN- γ y ELISA; el Grupo 2, positivo a la PTCC e IFN- γ y negativo a ELISA; el Grupo 3, negativo a la PTCC e IFN- γ y positivo a ELISA y el Grupo 4, correspondiente a animales clínicamente sanos. De los cuales, se obtuvo sangre heparinizada para la separación de células mononucleares (CMN) por gradiente de ficoll-hypaque. Las CMN se cultivaron en medio RPMI suplementado con SFB al 5% para su estimulación in vitro con PPD bovino. La determinación de subpoblaciones de linfocitos T se realizó por citometría de flujo, empleando anticuerpos monoclonales hacia CD3, CD4, CD8- β , WC1-N3 (linfocitos T $\gamma\delta$), CD25 (receptor de IL-2) y CD45RO. De los sobrenadantes de cultivo estimulados y sin estimular se evaluó la producción de IFN- γ , IL-17 e IP-10 por ELISA. Los datos obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza, seguido de una prueba de Tukey. Los resultados mostraron un incremento en el porcentaje de linfocitos CD8 y de células B en ambos grupos seropositivos en comparación con el grupo de vacas sanas o control ($p=0,001$). No existió diferencia en el porcentaje de linfocitos $\gamma\delta$ (WC1) y CD4 entre grupos. De igual modo, se observaron niveles altos de ambos isotipos IgG1 e IgG2 en el grupo de animales anérgicos en relación al grupo de animales reactivos ($P<0.01$). En tanto que, la producción de IFN- γ , IL-17 e IP-10 fue más alta que en la del grupo sano. En vacas anérgicas se observó un mayor grado de proliferación de linfocitos T CD8, linfocitos B y niveles altos de ambos isotipos de IgG. Estos resultados muestran claras diferencias en las poblaciones celulares de ganado reactor a la tuberculina con diferentes niveles de anticuerpos a los antígenos de *M. bovis*, como consecuencia de las diferentes etapas o progreso de la enfermedad. Porcentajes altos de linfocitos CD8, células B, así como un nivel mayor de producción de las citocinas proinflamatorias evaluadas representan excelentes biomarcadores para determinar el progreso de la enfermedad. Actualmente, en las estrategias de control, así como en el desarrollo de métodos inmunodiagnósticos se busca alcanzar una mayor definición sobre los espectros inmunológicos que se observan desde la eliminación del bacilo de forma inespecífica a la infección latente y en la enfermedad activa, por lo que estos biomarcadores muestran su utilidad para posibles fines diagnósticos.

Financing: Proyecto fiscal No. 142 945 340 13 "EVALUACIÓN DE BIOMARCADORES INMUNES ASOCIADOS A LA EFICACIA VACUNAL CONTRA LA TUBERCULOSIS BOVINA Y SU EFECTO COMPARATIVO CON LA MEJORA DEL ESTADO SANITARIO DE LOS HATOS"

Microbiota respiratoria en pollos broiler comerciales bajo condiciones de manejo intensivo y bioterio

Dinka Ivulic¹, Héctor Hidalgo², David Montero^{3,4}, Tomeu Viver⁵, Ramón Rosselló-Mora⁵, & Roberto Vidal³

(1) Universidad de Chile, Programa de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias, Campus Sur, Santa Rosa 11315, La Pintana, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Departamento de Patología Animal, Unidad de Investigación y Diagnóstico Enfermedades de Aves, FAVET, Santiago, Chile

(3) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(4) Universidad de Chile, Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Santiago, Chile

(5) Mediterranean Institute for Advanced Studies (IMEDEA, CSIC-UIB), Marine Microbiology Group, Department of Animal and Microbial Biodiversity, Esporles, Spain

Existen pocos estudios relacionados con la microbiota del sistema respiratorio de las aves broiler. Por lo tanto, nuestro objetivo fue caracterizar la microbiota bacteriana en dos sistemas de confinamiento, automatizado tipo túnel (2 galpones) y compararla con la de una sala control (bioterio), considerando muestreos al inicio, mitad y final (tiempo 1, 2 y 3) de un ciclo productivo típico de 42 días. El muestreo tomó en consideración el manejo "volteo de cama" en el tiempo 2 de uno de los galpones analizados. Se recogieron aves para estudio de microbiota y se recuperó ADN total desde lavado traqueal. Luego se amplificó y secuenció el gen 16SrDNA completo con partidores GM3 y 23S1 utilizando la plataforma PacBio. El análisis de beta diversidad mostró diferencias asociadas al tiempo (edad) en los dos galpones muestreados, pero no en bioterio. Además, en el tiempo 2 se observó una diversidad beta y dendrograma distintivos para el galpón donde se realizó el volteo de cama (realizado previo al muestreo), con predominio de *Escherichia coli*/*Shigella* en todas las muestras bajo esta condición (>99,5%). En general, se observó un predominio de proteobacterias del orden Enterobacterales en galpones y Firmicutes de la clase Bacilli en bioterio, con menor presencia de los filos Actinobacteriota y Bacteroidota en las muestras. Se observó un porcentaje importante de OPUs (Operational Taxonomic Units) sin filiación taxonómica a nivel familia, género y especie, en las muestras analizadas, asumiendo que corresponden a nuevos taxones. Además, se observó baja diversidad en todas las muestras, siendo esto más acentuado en los galpones a tiempo 2. Es de destacar que en los galpones se observó una transición de *Escherichia coli*/*Shigella* a *Gallibacterium* sp., como representantes dominantes, entre el inicio y el final del ciclo productivo. En bioterio no se observa dominancia, con gran heterogeneidad entre las réplicas. En conjunto, estos resultados indican que existe una predominancia de *Escherichia coli*/*Shigella* (Enterobacterales de la familia Enterobacteriaceae) al inicio del ciclo productivo analizado, con un cambio hacia la mitad y al final del ciclo productivo a *Gallibacterium* sp. (Enterobacterales de la familia Pasteurellaceae). Además, es posible que la dominancia de *Escherichia coli*/*Shigella* en el tiempo 2 esté asociada al manejo "volteo de cama", que de forma mecánica airea el sustrato de viruta sobre el que viven las aves y aumenta los aerosoles en el ambiente dentro del galpón. Estos estudios cobran importancia al analizar microbiológicamente el impacto del tipo de ambiente y los manejos mecánicos del sustrato en que viven las aves de producción, los que pueden modular su microbiota respiratoria y afectar su salud.

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID, Chile): Beca de Doctorado Nacional 21171030, Concurso Nacional de Tesis de Doctorado en el Sector Productivo T7819120003 y FONDECYT Regular 1211647.

Caracterización bioquímica de MurA y MurB del patógeno *Brucella ovis*: enzimas implicadas en la síntesis de la pared de peptidoglicano.

Martha Minjárez-Sáenz^{1,2}, Andrea Moreno^{1,2}, Marta Martínez-Júlvez^{1,2}, Milagros Medina^{1,2}

(1) Universidad de Zaragoza, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias, Calle de Pedro Cerbuna 12, 50009, Zaragoza, España

(2) Universidad de Zaragoza, Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos, BIFI, (BIFI-IQFR and GBsC-CSIC Joint Units), Mariano Esquillor, Edificio I+D Campus Río Ebro, 50018, Zaragoza, España

El peptidoglicano (o mureína) es un componente esencial de la pared celular de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Es un complejo de heteropolímeros ampliamente reticulados que se componen de largas cadenas de glicano con péptidos cortos entrecruzados. La biosíntesis de sus componentes básicos es un proceso complejo de más de 10 reacciones de síntesis que tienen lugar en el citoplasma y en el lado interno/externo de la membrana citoplasmática. En una primera etapa se forma el ácido uridina difosfato N-acetilmurámico (UDP-MurNAc) a partir de uridina difosfato N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc) mediante la acción secuencial de dos enzimas: MurA y MurB. MurA cataliza la transferencia del grupo enolpiruvato del fosfoenolpiruvato (PEP) al UDP-GlcNAc. El producto resultante, UDP-N-acetilglucosamina-enolpiruvato (EP-UDP-GlcNAc), se reduce luego, mediante la acción de MurB al producto UDP-MurNAc usando como poder reductor NADPH en una reacción dependiente de FAD. Dado que esta vía es esencial para las bacterias, pero está ausente en los animales, estas enzimas se convierten en dianas interesantes para el diseño de compuestos antibacterianos. En este trabajo, se ha optado por el estudio de las correspondientes enzimas del cocobacilo gramnegativo *Brucella ovis*. Esta bacteria patógena provoca la Brucelosis ovina, caracterizada por placentitis en ovejas y lesiones genitales en carneros, con gran impacto económico en todos aquellos países con importante actividad ganadera ovina. En este estudio presentamos la primera caracterización bioquímica de MurA y MurB de *B. ovis*, codificadas en el genoma de esta bacteria por los genes BOV_RS01375 y BOV_RS06850, respectivamente. Dichos genes fueron clonados en un sistema heterólogo (*E. coli*), y sus productos purificados a homogeneidad. La integridad y las características estructurales de ambas enzimas se han evaluado mediante espectroscopia, fluorescencia, dicroísmo circular y estabilidad térmica, mientras que, para evaluar las actividades enzimáticas, se han empleado dos metodologías diferentes; un método colorimétrico a partir de verde de malaquita (MurA) y espectrofotometría de flujo detenido (stopped-flow) para MurB.

Financing: Esta Investigación ha sido financiada por el Gobierno de España, Ministerio de Ciencias e Innovación-Agencia Estatal de Investigación (Proyecto PID2019-103901GB-I00), y por el Gobierno de Aragón-FEDER (Grupo de Referencia Biología Estructural. E35_20R).

Hepatozoonosis canina: hallazgos hematológicos y bioquímicos en perros del distrito IX del colegio de veterinarios de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Maria Eugenia Rols¹, Carolina Ponce², Maria Elisa Solana³

(1) Universidad Nacional de Lujan, Departamento de Ciencias Básicas, Avenida Constitución y ruta 5 s7n, Lujan, Argentina

(2) Universidad Nacional de Lujan, Departamento de Ciencias Básicas, Avenida constitución y ruta 5 s7n, Lujan, Argentina

(3) Universidad Nacional de Lujan, Departamento de Ciencias Básicas, Avenida constitución y ruta 5 s7n, Lujan, Argentina

La Hepatozoonosis canina es una enfermedad transmitida por la ingestión de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*, infectadas con ooquistes maduros del protozoo Apicomplexa *Hepatozoon canis*. Este parásito invade neutrófilos y monocitos mediante los cuales se disemina a distintos órganos. Las manifestaciones clínicas son muy diversas lo que hace difícil el diagnóstico presuntivo. El objetivo del presente trabajo fue determinar los parámetros de laboratorio cuya alteración se asocia a la infección por *Hepatozoon sp* a fin de determinar su valor pronóstico. Para ello se realizó el estudio retrospectivo de 18 perros (9 hembras y 9 machos) en los que se había confirmado la presencia del parásito en frotis de sangre teñidos con May- Grünwald Giemsa y en 13 animales no infectados (7 hembras y 6 machos). En todos se determinó su fórmula leucocitaria completa, recuento de eritrocitos y plaquetas. Asimismo se registraron los valores de hematocrito, hemoglobina, VCM, HCM y VHCM. En relación con los parámetros bioquímicos se determinaron los valores de urea, creatinina, albúmina, bilirrubina total y directa, glucosa, fósforo inorgánico, TGP, TGO y fosfatasa alcalina. Se compararon los valores entre animales infectados y controles mediante test t de Student. Se analizaron posibles asociaciones entre la infección parasitaria y alteraciones en parámetros de laboratorio y se estimó el factor de riesgo (Odds ratio). Los resultados muestran que el número de eritrocitos y leucocitos ($p < 0,001$) difiere entre los perros infectados y controles. Lo mismo fue observado entre los valores de hematocrito y hemoglobina ($p < 0,001$). Respecto a la fórmula leucocitaria, tanto linfocitos ($p < 0,008$) como monocitos ($p < 0,02$), neutrófilos segmentados ($p < 0,03$) y neutrófilos en banda ($p < 0,007$) mostraron diferencias entre ambos grupos. La concentración de albúmina (g/l) resultó diferente ($p < 0,001$). El resto de los parámetros hematológicos y bioquímicos no mostraron diferencias entre los grupos estudiados. Al analizar si la infección se asocia a cambios en los valores de los parámetros estudiados y al calcular su odd ratio, se registró que la infección por *Hepatozoon sp* aumenta el riesgo de producir anemia por disminución del recuento de eritrocitos (OR 11,7; $p < 0,01$), del hematocrito (OR 19,5; $p < 0,02$) y de la hemoglobina (OR 31,2; $p < 0,001$). Asimismo, se observó una fuerte asociación entre la ausencia de infección y los valores normales del recuento de leucocitos en sangre ($p < 0,004$). Del análisis realizado, se puede concluir que la hepatozoonosis canina está presente en el distrito IX del Colegio de Veterinarios de la provincia de Buenos Aires (Argentina). La disminución en el recuento de eritrocitos así como el hematocrito y el nivel de hemoglobina constituyen parámetros fuertemente asociados con la infección que presentan alto poder predictivo en el diagnóstico de hepatozoonosis canina. Resulta importante realizar tareas de divulgación sobre esta parasitosis a fin de incluirla dentro de posibles diagnósticos diferenciales. El conocimiento de la prevalencia real de esta parasitosis permitirá instaurar medidas de control contra la población de garrapatas y así mitigar el impacto de la enfermedad sobre la población canina.

Financing: Privada

Primeros datos sobre la microbiota bacteriana fecal de la rata magueyera (*Neotoma albigula*) en el norte de México

CRISTINA GARCIA-DE LA PEÑA¹, IRENE PACHECO-TORRES², CÉSAR ALBERTO MEZA-HERRERA², LUIS ANTONIO TARÁNGO-ARÁMBULA³, FELIPE VACA-PANIAGUA⁴, CLARA ESTELA DÍAZ-VELÁSQUEZ⁴, LUIS MANUEL VALENZUELA-NUÑEZ¹, JESÚS VÁSQUEZ-ARROYO⁵, QUETZALY KARMY SILLER-RODRÍGUEZ¹, JUAN CARLOS HERRERA-SALAZAR¹

(1) Universidad Juárez del Estado de Durango, Laboratorio de Medicina de la Conservación, Facultad de Ciencias Biológicas, Gómez Palacio, Durango, México

(2) Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Bermejillo, Durango, México

(3) Colegio de Postgraduados, Campus San Luis Potosí, San Luis Potosí, México

(4) Universidad Nacional Autónoma de México, Laboratorio Nacional en Salud, Diagnóstico Molecular y Efecto Ambiental en Enfermedades Crónico-Degenerativas, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Estado de México, México

(5) Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Químicas, Gómez Palacio, Durango, México

La rata magueyera (*Neotoma albigula*) es un roedor desértico nocturno que se distribuye desde el sureste de California y Utah en Estados Unidos de América, hasta el centro de México. Su importancia ecológica radica en que sus excrementos aumenta la cantidad de sales solubles totales, bicarbonatos y iones de nitrato en el suelo, además de que la construcción de sus madrigueras contribuye a la aireación del suelo y la filtración de agua en las zonas en que habita. Los cactus (*Opuntia* spp.) ricos en agua constituyen aproximadamente el 90% de la dieta de este roedor, lo que lo ha llevado a generar una adaptación fisiológica de tolerancia al consumir ácido oxálico, un componente del cactus que suele ser altamente tóxico para otros mamíferos. El objetivo del presente estudio fue determinar la composición bacteriana fecal de algunos individuos de *N. albigula* mediante secuenciación masiva (gen 16S) en la Reserva de la Biosfera Mapimí, ubicada en el norte de México. Tres roedores *N. albigula* adultos fueron capturados mediante trampas Sherman en agosto 2019. Su excremento fue colectado y depositado en tubos con buffer de lisis. Se extrajo el DNA de las tres muestras fecales utilizando kit comercial, se amplificó la región V3-V4 del gel 16S rRNA y se llevó a cabo secuenciación por síntesis en Miseq Illumina. Los resultados fueron analizados en QIIME utilizando la base taxonómica de referencia coreana EzBioCloud. Se obtuvo una media de secuencias bacterianas de calidad Q30, sin quimeras y sin singletons de 124,885. A partir de los OTUs obtenidos se clasificaron 11 phyla (Firmicutes = 52.1%; Bacteroidetes = 24.6%), 24 clases (Clostridia = 51.5%; Bacteroidia = 24.6%), 36 órdenes (Clostridiales = 51.5%; Bacteroidales = 24.6%), 66 familias (Ruminococcaceae = 33.5%; Lachnospiraceae = 15.3%), 270 géneros (Ruminococcus = 8.6% y otros menos abundantes como *Actinobacillus*, *Akkermansia*, *Aldercreutzia*, *Alistipes*, *Anaerotruncus*, *Bacillus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Butyricoccus*, *Caproiciproducens*, *Christensenella*, *Clostridium*, *Collinsella*, *Coprococcus*, *Eisenbergiella*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Fusobacterium*, *Helicobacter*, *Lachnospira*, *Microvirga*, *Odoribacter*, *Oscilibacter*, *Oxalobacter*, *Parabacteroides*, *Proteus*, *Pseudoflavonifractor*, *Roseburia*, *Sanguibacteroides*, *Sporobacter*, *Streptococcus*, *Subdoligranulum*, *Syntrophococcus*) y 306 especies (85.6% desconocidas, 13.1% no cultivables y 1.3% conocidas como *Actinobacillus equuli*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium pseudolongum* y *Sanguibacteroides justesenii*). Los phyla dominantes registrados en la microbiota fecal de la rata magueyera son característicos en una gran cantidad de vertebrados. El phylum Firmicutes es especialmente abundante en herbívoros que se alimentan de una sola o pocas especies de plantas como es el caso de esta rata, cuya alimentación se basa en el género *Opuntia*. Se espera que esta información incremente el conocimiento sobre las bacterias intestinales que albergan los roedores desérticos; además que sirva de línea base para el monitoreo de salud de esta especie de roedor y para mejorar las estrategias de conservación de fauna silvestre en la Reserva de la Biosfera Mapimí, México.

Financing: UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO

Bacterias patógenas y zoonóticas en la garrapata *Ornithodoros turicata* en el norte de México

CRISTINA GARCIA-DE LA PEÑA¹, SERGIO IVÁN BARRAZA-GUERRERO², CÉSAR ALBERTO MEZA-HERRERA², FELIPE VACA-PANIAGUA³, CLARA ESTELA DÍAZ-VELÁSQUEZ³, LUIS MANUEL VALENZUELA-NÚÑEZ¹, JUAN CARLOS HERRERA-SALAZAR¹

(1) Universidad Juárez del Estado de Durango, Laboratorio de Medicina de la Conservación, Facultad de Ciencias Biológicas, Gómez Palacio, Durango, México

(2) Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Bermejillo, Durango, México

(3) Universidad Nacional Autónoma de México, Laboratorio Nacional en Salud, Diagnóstico Molecular y Efecto Ambiental en Enfermedades Crónico-Degenerativas, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Estado de México, México

Las garrapatas están ampliamente distribuidas en el mundo como ectoparásitos hematófagos obligados de los vertebrados. La garrapata blanda (*Argasidae*), *Ornithodoros turicata*, se ha reportado parasitando a la tortuga del Bolsón, *Gopherus flavomarginatus*, especie endémica y amenazada del Desierto Chihuahuense en el norte de México. Actualmente, las técnicas de secuenciación masiva de siguiente generación han permitido detectar eficazmente a patógenos bacterianos importantes para la salud animal y humana. El objetivo del estudio fue detectar bacterias patógenas y zoonóticas en la garrapata *O. turicata* mediante secuenciación masiva de una porción del gen 16S rRNA. Se colectaron 15 garrapatas mediante búsqueda directa en 45 tortugas. Se conjuntaron tres pools con cinco garrapatas cada uno. Se extrajo el DNA y se amplificó la región V3-V4 del gen 16S rRNA. Se realizó secuenciación masiva por síntesis en Miseq Illumina. El análisis bioinformático se llevó a cabo en el programa Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME), con criterio de calidad Q30 y utilizando la base de referencia taxonómica EzBioCloud. Se obtuvo la abundancia relativa promedio para cada taxón. Se detectaron dos especies potencialmente patógenas para la tortuga del Bolsón, *Mycoplasma* sp. y *Pasteurella testudinis*, ambas en muy bajas proporciones (<0.001%). Además se reportaron cinco especies zoonóticas, de las cuales la más abundante fue *Neoehrlichia* sp. (4.2%), seguida por *Coxiella burnetii* (0.18%), *Anaplasma phagocytophilum* (0.001%), *A. marginale* (0.0003%) y *A. ovis* (0.0003%). Las dos bacterias patógenas detectadas en el presente estudio (*Mycoplasma* sp. y *P. testudinis*), han sido reportadas como posibles causas de enfermedad respiratoria superior en las tortugas *G. agassizii* y *G. polyphemus* en Estados Unidos, provocando una disminución en sus poblaciones. Al momento se desconoce si estas bacterias se transmitan de *O. turicata* a *G. flavomarginatus* y si puedan causarle enfermedad. Las especies zoonóticas detectadas en *O. turicata* son bacterias intracelulares obligadas importantes para la salud humana y animal, ya que suelen infectar células hematopoyéticas o endoteliales. El género *Neoehrlichia* fue descrito recientemente y aún falta por investigar su papel como patógeno zoonótico. Sin embargo, *C. burnetii* causa la fiebre Q tanto en animales como en humanos, *A. phagocytophilum* causa anaplasmosis granulocítica humana, y *A. marginale* y *A. ovis* causan anaplasmosis bovina y ovina, respectivamente. Será importante monitorear la salud de *G. flavomarginatus*, ya que el presente estudio ha demostrado cercanía con dos patógenos potenciales. Por su parte, es importante ampliar el conocimiento de la microbiota bacteriana en garrapatas que parasiten fauna silvestre, ya que el creciente contacto humano con estas especies puede representar un riesgo potencial de salud pública.

Financing: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

Caracterización molecular del coronavirus felino en dos municipios de Colombia

Alida Valencia¹, Julian Ruiz-Saenz¹

(1) Universidad Cooperativa de Colombia, GRICA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bucaramanga, Colombia

Introducción: el Coronavirus felino (FCoV) es un virus RNA de cadena simple con polaridad positiva, envuelto, con un tamaño de genoma de acerca 30 kilobases (Kb) que tiene 11 marcos de lectura abiertos (ORFs). Actualmente se conocen dos serotipos, el tipo I que es único de felinos y el tipo II que nace de una recombinación entre el tipo I y el Coronavirus canino (CCoV); estos a su vez pueden dividirse en dos biotipos, los virus que ocasionan enfermedades entéricas leves (FECV) y los que causan la peritonitis infecciosa felina (FIPV). En Colombia, un estudio halló una seroprevalencia del 62% la ciudad de Medellín, pero no se reportó los serotipos y biotipos virales que circulaban en la ciudad. El objetivo del estudio fue caracterizar molecularmente los serotipos y biotipos del FCoV que circulan en dos municipios de Colombia. **Métodos:** se tomaron muestras de materia fecal a 193 animales. Inicialmente, se realizó la extracción del RNA viral de las muestras obtenidas, y por medio de la RT-PCR se obtuvo el cDNA, el cual fue usado en las siguientes pruebas moleculares. Posterior a esto, se llevaron a cabo dos PCRs convencionales utilizando cebadores dirigidos al gen NSP-14 y al gen de la proteína S. Los productos obtenidos de ambas PCRs fueron secuenciados por el método SANGER y las secuencias obtenidas fueron analizadas en el programa MEGA 7, esto con el fin de determinar el serotipo y biotipo viral y realizar una filogeografía. **Resultados:** el 84% y el 70% de los provenientes de Bucaramanga y Medellín fueron positivos al FCoV. Filogenéticamente se determinó que el FCoV tipo I es el virus circulante en ambas áreas, además, se encontró que la introducción del virus se pudo dar en dos tiempos diferentes. También, se evidenció, a partir de la PCR para identificar el gen de la proteína S, que el biotipo circulante es el FECV. Además, se observaron otras dos mutaciones dentro de nuestras secuencias: una de estas se comparte con algunas secuencias de referencia del biotipo FIPV y la otra es una mutación propia de nuestras secuencias. **Conclusiones:** Se logró determinar y confirmar que el serotipo circulante en las regiones es el tipo I, que se agrupaban con secuencias de referencia de distintos países, lo que nos indica que hay una alta diversidad genética. Asimismo, se pudo determinar la fecha y el lugar de origen en los que se dieron las introducciones del virus. Por último, se encontró que el biotipo circulante es el FECV y que nuestras secuencias presentan una mutación que también se encuentra en las secuencias de referencia del biotipo FIPV y otra que es propia de ellas.

Interacción in silico de la Proteína de espícula (S) de SARS CoV-2 con receptores ACE2 de especies silvestres y domésticas.

Santiago Rendon-Marin¹, Marlen Martinez-Gutierrez², Gary R. Whittaker³, Javier A. Jaimes³, Julian Ruiz-Saenz¹

(1) Universidad Cooperativa de Colombia, GRICA. Grupo de Investigación en Ciencias Animales, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bucaramanga, Colombia

(2) Universidad Cooperativa de Colombia, Infettare, Facultad de Medicina, Medellín, Colombia

(3) Cornell University, Department of Microbiology and Immunology, College of Veterinary Medicine, Ithaca, United States of America

Introducción: el virus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) se convirtió en una pandemia y se ha convertido en un problema de salud pública mundial. Se ha descrito la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor para este virus. La infección natural por SARS-CoV-2 en animales domésticos y silvestres, medida mediante RT-qPCR, se ha confirmado en diferentes países, especialmente de la familia Felidae. La inoculación experimental in vivo de SARS-CoV-2 no ha mostrado infección en perros, cerdos, pollos y patos, sugiriendo que estas especies no son susceptibles al virus. Sin embargo, estudios similares han mostrado que gatos y hurones infectados vía intranasal dieron como resultado una infección productiva y una posible transmisión a otros animales susceptibles a través de gotas respiratorias. Por otra parte, estudios in silico sugieren que los felinos salvajes y los gatos domésticos podrían ser susceptibles a SARS CoV-2, además que, en gatos domésticos, el gen ACE2 se expresa en gran medida en varios tejidos como el riñón, el corazón e hígado. Considerando lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la interacción potencial de la proteína S con el receptor ACE2 de diferentes animales mediante acoplamiento molecular. Metodología: se realizó comparación de secuencias del receptor ACE2 de diferentes especies domésticas y silvestres mediante la herramienta MEGA X. El ACE2 de gatos, tigres, hurones, perros y hámster se modeló por homología con la estructura cristalográfica reportada de humanos (#PDB: 6M17) como molde. Los modelos se validaron mediante herramientas computacionales como ProsWeb, TM-Align y SwissModel. Se empleó HADDOCK para el acoplamiento molecular del dominio de unión a receptores (RBD) de la proteína S de SARS CoV-2 con y sin glicosilaciones, en complejo con los modelos del receptor ACE2 de las diferentes especies anteriormente mencionadas. Finalmente, se realizaron análisis mediante alineamientos estructurales con el visualizador Chimera. Resultados: el ACE2 de diferentes especies evaluadas difiere entre 14.2-17.2 % respecto al ACE2 humano. Los modelos obtenidos tuvieron una calidad global favorable similar a estructuras reportadas en el Protein Data Bank, además obtuvieron un porcentaje de aminoácidos mayor al 90% en regiones energéticamente favorables. En comparación al ACE2 humano, el receptor ACE2 de gato y tigre interactúa eficientemente con la RBD de la proteína S del SARS CoV-2. Sin embargo, la interacción del ACE2 de perro, hurón y hámster no tuvo valores de unión favorables. En cambio, con la proteína S glicosilada, el ACE2 de hurones interactuó de manera favorable, indicando la importancia de las glicosilaciones. El complejo de la proteína S y el ACE2 de gato obtuvo una interfaz de interacción idéntica respecto al modelo experimental reportado (#PDB: 7C8D) Conclusión: estos resultados in silico sugieren que el SARS-CoV-2 podría interactuar de manera eficiente con los ortólogos ACE2 en especies que no son primates. Aunque la susceptibilidad se ha predicho in silico y se ha demostrado in vivo en gatos, se requieren más investigaciones para responder a múltiples preguntas sobre la patogénesis del SARS-CoV-2 en esta especie, así como su papel en la transmisión viral a los seres humanos.

RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO EN BECERRAS VACUNADAS CON BCG, O CON EXTRACTO PROTEICO DE CULTIVO DE *Mycobacterium bovis*

Fernando Díaz Otero¹, Laura Jaramillo Meza¹, Anabelle Manzo Sandoval¹, Rafael Pérez González²

(1) CENID-SALUD ANIMAL E INOCUIDAD DEL INIFAP, INMUNOLOGÍA, Carretera Federal México-Toluca Km 15.5, Col. Palo Alto Cuajimalpa, Ciudad de México, México

(2) , FES-Cuautitlán UNAM, Bovinos de Leche, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Cuautitlán-Teoloyucan, Km 2.5, Estado De México, México

La tuberculosis bovina (TB) tiene relevancia por el riesgo que representa para la salud humana y por los efectos negativos que ocasiona a la industria del sector pecuario. Situación que ha suscitado la investigación tanto en el desarrollo de mejores técnicas de diagnóstico, como en otras alternativas de control. La investigación en el tema contempla la identificación y caracterización de antígenos micobacterianos inmunodominantes a fin de determinar aquellos capaces de inducir una inmunidad protectora, y los que pueden ser de utilidad diagnóstica. Por tanto, el objetivo del estudio fue comparar el perfil de reconocimiento antigénico a las proteínas de secreción de *Mycobacterium bovis* de vaquillas vacunadas contra la tuberculosis bovina ya sea con la vacuna BCG o con un Extracto Proteico de Filtrado de Cultivo (CFPE). Para lo cual se utilizó una colección de sueros obtenidos de becerras inmunizadas con diferente dosis de vacuna BCG (1x10⁴ y 1x10⁶), así como sueros de becerras inmunizadas con el CFPE en diferentes tiempos de muestreo para efectuar un análisis de reconocimiento antigénico por inmunotransferencias. conjuntamente se analizaron sueros de bovinos naturalmente infectados, positivos a las pruebas de la tuberculina doble comparativa, ELISA y BOVIGAM, a fin de comparar el reconocimiento antigénico entre grupos vacunados, tuberculosos y sanos no reactivos. El análisis en los diferentes muestreos mostró diferencias tanto en el número de antígenos reconocidos como en intensidad en función del tiempo para los diferentes grupos vacunados. Previo a la vacunación el 40 % de los animales presentaba reactividad a las proteínas de: 60, 50-55, 45-47 y 32 (Ag 85) kDa. En los subsecuentes muestreos, los animales vacunados y control exhibieron baja reactividad hacia los antígenos de 216, 20, 132, 26, 23, 10 y 6 kDa. En el grupo de bovinos infectados naturalmente la reactividad estuvo dirigida a los antígenos de: 216, 200, 132, 78, 38, 26, 23, 19, 10 y 6 kDa. Antes de la vacunación los animales exhibieron reconocimiento a varias proteínas del CFPE de *M. bovis*, pese a que ese tiempo resultaron negativos a las diferentes pruebas diagnósticas empleadas para su selección, lo que indica una posible sensibilización por bacterias taxonómicamente relacionadas. Por otro lado, las diferencias del grupo reactor con la del grupo control infectado experimentalmente hacia las proteínas de 38, 26, 23, 10 y 6 kDa, pueden deberse a la cronicidad de la infección de los animales de campo seleccionados para el estudio y/o a diferencias con las cepas de campo involucradas en el proceso infeccioso.

Financing: Proyecto de Recursos Fiscales del INIFAP, No SIGI 142 945 340 13

Respuesta Inmune humoral de carnerillos, frente a la vacunación experimental con dos dosis de la cepa *Brucella abortus* RB51.

Constanza Pinilla Suárez¹, Manuel Moroni Rodríguez², Gerhardt Schurig³, Nammalwar Sriranganathan⁴, Oscar Martínez Viveros¹, **Bárbara Otto**¹

(1) Universidad Austral de Chile, Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile

(2) Universidad Austral de Chile, Patología Animal, Ciencias Veterinarias, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile

(3) Virginia Tech, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, Virginia, Estados Unidos

(4) Virginia Tech, Pathobiology, Biomed Sciences, Blacksburg, Virginia, Estados Unidos

En Chile, no se utilizan métodos de prevención vaccinal frente a la brucelosis ovina ocasionada por *Brucella ovis*, por lo que se busca hallar alternativas seguras que puedan emplearse para su prevención y que no interfieran con las barreras zoonositarias del país. Entre los años 2017 y 2018, 19 carnerillos separados de manera aleatoria en tres grupos fueron vacunados con *Brucella abortus* cepa RB51 en dos oportunidades, empleando con la segunda dosis el uso del adyuvante Montanide™ Gel en uno de los grupos. Un total de 304 muestras de suero sanguíneo fueron obtenidas mediante muestreos seriados cada 15 días por venopunción yugular de los carnerillos, durante un período de 180 días. Se analizaron las muestras de suero sanguíneo mediante un Enzimo Inmuno Ensayo Indirecto (I-ELISA) estandarizado para antígenos vacinales de la cepa RB51 y obtenidos por purificación de extracto salino, con el objeto de evaluar la respuesta inmune humoral de los carnerillos vacunados durante el período de estudio. La respuesta inmune humoral en los grupos vacunados comienza a ser notoriamente perceptible a nivel del día 97 ($p < 0.018$) o 7 días posterior al booster, manteniéndose esta respuesta elevada hasta el día 135, para posteriormente observar una baja en los títulos de anticuerpos ($p < 0.007$). Por otra parte, el grupo control se mantiene dentro de rangos negativos para la prueba de I-ELISA. Al emplear los antígenos de RB51 en el ELISA, se determina que el adyuvante en la segunda dosis genera un incremento en los títulos de anticuerpos ($p < 0,018$). Se concluye que la utilización de dos dosis de la vacuna *Brucella abortus* cepa RB51 genera una fuerte respuesta inmune humoral en carnerillos, la que es incrementada con el uso del adyuvante Montanide™ Gel junto a la segunda dosis vaccinal, pero se requiere de futuras investigaciones para demostrar la efectividad protectora de la cepa RB51 frente a *B. ovis*. Palabras clave: *Brucella abortus* cepa RB51, brucelosis, carnerillos, I-ELISA, adyuvante

Financing: Proyecto VT-UACH Joint Research Program Seed Grant: "Prevention of *Brucella ovis* induced pathology in rams through vaccination"

Resistencia Antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli* aisladas de pollos para engorde.

Maria Fatima Rodriguez¹, Fabiola Leguizamon¹, Edith Ruiz Diaz¹, Rosmary Rodriguez¹, Antonio Rodriguez¹
(1) Centro de Diagnostico Veterinario CEDIVEP, Dpto. de Microbiología, San Lorenzo 467, San Lorenzo, Paraguay

La avicultura es uno de los sectores de crecimiento exponencial dentro del sector agropecuario nacional, lo que implica el aumento de las exigencias en sanidad e inocuidad. La *E.coli* es el microorganismo de mayor impacto sanitario y económico en este sector. El uso indiscriminado de antibióticos para el control de las infecciones ocasionadas por este patógeno en pollos para engorde ha contribuido al aumento progresivo de la resistencia antimicrobiana a varias familias de antibióticos (Betalactámicos, Quinolonas y Aminoglucósidos). El objetivo de la presente investigación fue determinar el porcentaje de resistencia bacteriana en cepas de *E.coli* aisladas de pollos para engorde; a su vez, cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), procedentes de muestras de hisopados de hígado, sacos aéreos y pericardio de pollos que ingresaron al Laboratorio CEDIVEP durante el año 2019 y 2020, las mismas fueron cultivadas en agar MacConkey e identificadas a través de pruebas bioquímicas, luego se realizó el antibiograma según el método Kirby-Bauer, la lectura de los halos de inhibición fueron evaluados según las tablas del CLSI-VET 08 y la determinación de la producción de BLEE se realizó mediante el método de Jarlier (método de sinergia del doble disco). De un total de 92 cepas de *E. coli* aisladas, el perfil de resistencia fue el siguiente: Enrofloxacina 56,5%, Sulfa-trimetoprim 48,9%, Gentamicina 32,6%. Confirmando la presencia de BLEE en un 73% de los cultivos. Mientras que resultaron sensible el 65,2% a Gentamicina, el 51,1% a Sulfa-trimetoprim y 30,4% a Enrofloxacina. Y se obtuvo un resultado intermedio de 13% a Enrofloxacina y 2,2% a Gentamicina. Reportamos el hallazgo de *E. coli* productoras de BLEE y elevados porcentajes de resistencia a antimicrobianos en cepas procedentes de animales destinados al consumo humano. Se debe alertar a las autoridades veterinarias y de salud pública para que limiten y racionalicen el uso de estos medicamentos, a fin de evitar la progresión de la resistencia microbiana.

Standardization and application of the fluorescence polarization assay for the diagnosis of *Brucella melitensis* in goat milk

Dianelys Sotolongo¹, Magda Celina Navarro², Patricia Tamez³, Ricardo Gómez⁴, Carlos Ramírez⁵

(1) Universidad Autónoma de Nuevo León, Laboratorio de Inmunología y Virología,, Facultad de Ciencias Biológicas,, Pedro de Alba S/N, Niños héroes, Ciudad Universitaria , San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66450., San Nicolás de los Garza, México

(2) Universidad Autónoma de Nuevo León, Laboratorio de Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,, General Francisco Villa 2o, Hacienda del Cañada , Cd General Escobedo, Nuevo León C.P. 66054, Cd General Escobedo, México

(3) Universidad Autónoma de Nuevo León, Laboratorio de Inmunología y Virología,, Facultad de Ciencias Biológicas, Pedro de Alba S/N, Niños héroes, Ciudad Universitaria , San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66450., San Nicolás de los Garza, México

(4) Universidad Autónoma de Nuevo León, Laboratorio de Inmunología y Virología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pedro de Alba S/N, Niños héroes, Ciudad Universitaria , San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66450., San Nicolás de los Garza, México

(5) Universidad México Americana del Norte, Coordinación de Investigación Institucional, Ciudad Reynosa, Tamaulipas, C.P. 88640, Primera SN INFONAVIT , Anzalduas, Ciudad Reynosa, Tamaulipas, C.P. 88640, Tamaulipas

The milk ring test (MRT) is used currently as a test for the detection of antibodies against brucellosis in milk samples. MRT is considered to be highly sensitive although it may result in false positives. The purpose of this study was to develop a fluorescence polarization assay (FPA) for the detection of antibodies against *B. melitensis* in goat milk samples. Negative goat milk samples were obtained from healthy herds in the northern areas of Nuevo León. For obtaining positive milk controls, milk samples were mixed with previously tested by The Bengal Rose Test (RBT) and Complement Fixation Test (CFT) positive control serum samples, by adding 40 μ L, 80 μ L, and 120 μ L of the control serum to 2 mL of goat milk. We selected 41 milk samples that were treated with a clarification method, and positive and negative milk controls were analyzed by the FPA test. Briefly, 10 μ L of citric acid (1 g/mL) were added to 2 mL of milk and homogenized by performing 10 inversions. The sample was subsequently mixed by vortexing for 3 min, after which 1.8 mL of skim milk were transferred to a microcentrifuge tube and centrifuged at 5,000 rpm for 10 min. Non-treated samples, positive and negative milk controls were then analyzed by the FPA test. This test was performed using a commercial fluorescein-conjugated polysaccharide-O (OPS) extract from *Brucella abortus*. Milk sera and controls (20 μ L) were placed into borosilicate tubes plus an FPA buffer diluent (1 mL) and incubated for 30 min at room temperature to perform a blank reading of all samples and controls. After this, 10 μ L of the antigen with fluorescein were added in all tubes and incubated for 5 min at room temperature, for obtaining the final milli-polarization (mP) values of all samples and control. A receiver operating characteristics analysis was developed to establish the cut-off value, sensitivity, and specificity of the test in milk samples. It was not possible to differentiate between positive and negative samples without treatment; however, when milk was pre-treated, the FPA test significantly quantified antibodies in positive milk samples. Significant differences were found between the 2%, 4%, and 6% groups, as compared with the control group ($F_{3, 67} = 17.45$, $p < 0.0001$) but not between the 2% and 4% groups ($p = 0.0718$). We determined a cut-off point of the FPA of 74.1 mP, with a Se of 95% and an Sp of 100%. No false-positive were found when using the established cut-off value on milk samples of vaccinated goats. We showed that FPA detected antibodies to *B. melitensis* when a protocol for clarifying milk was used. FPA has proven to be a simple, rapid, and inexpensive test. **Keywords:** *Brucella* detection, antibodies, goat milk, FPA.

Identificación de un sistema de secreción de tipo 6 antibacteriano y caracterización bioinformática de potenciales efectores en *Escherichia coli* productora de toxina Shiga.

Nahuel Riviere¹, Mariano Larzábal¹, Wanderson Marques Da Silva¹, Angel Cataldi¹

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO)-INTA/CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

Escherichia coli productoras de toxina Shiga (STEC) son patógenos intestinales transmitidos por alimentos que pueden causar síndrome urémico hemolítico (SUH) en humanos, siendo O157:H7 el serotipo más frecuente asociado con SUH. La cepa STEC O22:H8 (nombrada cepa 154) es un serotipo aislado de ganado bovino en Argentina. Estudios preliminares demostraron que el ganado bovino colonizado por STEC O22:H8 154 podría impedir la colonización de O157:H7 en la juntura recto-anal. Ensayos de competencia in vitro contra O157:H7 confirmaron la actividad antibacteriana de STEC O22:H8. Uno de los mecanismos de virulencia más versátiles involucrado en la entrega de efectores es el sistema de secreción de tipo 6 (SST6), particularmente el SST6 1 transloca efectores antibacterianos de tipo toxina durante la competencia por el espacio nicho en bacterias Gram negativas. La secuenciación del genoma de STEC O22:H8 154 realizada con la plataforma PacBio nos permitió identificar genes candidatos del SST6. Para ello se utilizaron las bases de datos pfam y Batch Web CD Search-tool para la identificación de dominios catalíticos de los genes candidatos y los servidores Phyre 2 y HHPRED para obtener una predicción de la estructura 3D de las secuencias proteicas. Por último, las proteínas de interés fueron analizadas con Bastion 6, un preciso predictor de potenciales efectores del SST6. Además, se determinó mediante ensayos de competencia in vitro la actividad bactericida de STEC O22:H8 154. Se hicieron co-cultivos de la cepa O22:H8 154 (predador) con O157:H7 (pCRISPR Kmr) (presa) ó DH5- α (pCRISPR Kmr) (presa) en distintas proporciones de predador:presa (0, 5:1, 1:1 y 3:1). Las mezclas fueron crecidas en LB agar por 16 hs a 37°C, luego lavadas con PBS para hacer diluciones seriadas y finalmente se sembraron en LB agar conteniendo kanamicina (50 μ g/ml) seleccionando de esta manera las cepas presas resistentes al antibiótico. En este trabajo, evidenciamos in silico la base molecular de la cepa STEC O22:H8 154 durante la competencia bacteriana contra O157:H7. Pudimos identificar la existencia de dos operones completos del SST6 (SST6 1 y SST6 2) y múltiples potenciales efectores del SST6 con dominios catalíticos de tipo DNasa, proteasas y fosfolipasas con sus respectivas proteínas de inmunidad. Entre ellos se encuentra la proteína RhsA conteniendo en su extremo C-terminal un dominio con actividad nucleasa, caracterizado por el motivo AHH (alanina-histidina-histidina). Este motivo muestra una identidad del 98% con el efector Rhs-AHH del SST6 1 ya caracterizado en *E. coli* CVM N33653PS y ECDEC10E_0684 de *E. coli* O26:H11. Además, presenta una potencial proteína de inmunidad que podría neutralizar la actividad de la toxina. En los ensayos de competencia in vitro pudimos determinar la actividad bactericida de O22:H8 154 (predador) contra O157:H7 (presa) y DH5- α en todas las proporciones predador:presa estudiadas. Los resultados obtenidos nos permiten inferir que la presencia de dos operones completos del SST6 (SST6 1 y SST6 2) y varias islas de patogenicidad conteniendo potenciales proteínas efectores en O22:H8 154 podrían otorgarle una ventaja adaptativa en la competencia interbacteriana.

Financing: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT)

Virulence genes in *Staphylococcus* spp. isolated from clinical mastitis and non-clinical fresh cows identified by whole genome sequence

Nathalia Cristina Cirone Silva¹, Marjory X. Rodrigues², Ana C.C.H. Tomazi², Tiago Tomazi², Bruna Lourenço Crippa¹, Rodrigo C. Bicalho²

(1) UNICAMP

(2) Cornell University, United States

Among the microorganisms responsible for causing mastitis in cattle, *Staphylococcus* spp. are the most frequently isolated. This genus is composed of bacteria capable of producing toxins, form biofilms in addition to the mechanisms of antimicrobial resistance. The *Staphylococcus* genus is divided into two groups: positive coagulase and negative coagulase, and both are considered etiologic agents that cause bovine mastitis. The aim of this work was to evaluate the genetic virulence features of *Staphylococcus* spp. isolated from clinical mastitis and non-clinical fresh cows using whole genome sequencing. The strains analyzed in this study belong to the strain bank of a large commercial dairy farm located near Ithaca, New York. First, genera and species were confirmed by sequencing the 16S rDNA gene, and then the virulence profile was analyzed using whole genome sequencing (WGS). The bacterial collection comprised 29 *Staphylococcus* strains isolated from clinical mastitis cases (n = 7) and milk samples collected from fresh cows (n = 22). Strains were identified as *Staphylococcus aureus* (n = 2), *Staphylococcus chromogenes* (n = 19), and *Staphylococcus haemolyticus* (n = 8). Ninety-four virulence genes were observed, including *pvl*, *icaA*, *icaD* and MMSCRAMS genes. Three strains, two isolated from milk from mastitic cows and one from fresh cows, presented more than 13 virulence genes. The presence of biofilm formation and toxin genes is a concern for Public Health. First, for food industry and consequently for the consumers. *Staphylococcus* sp. have to be controlled since the cows for avoid transmission.

Financing: FAPESP grant 2018/24191-3

Detección de la toxina CNF-1 de *Escherichia coli* en riñones de cerdo

Marco Antonio Hernández-Luna¹, Arturo Herrera Vázquez¹, Rebeca Arellano Aranda², Daniel Hernández Cueto³, Esmeralda Rodríguez-Miranda¹, Jose Sergio López- Briones¹

(1) Universidad de Guanajuato, Medicina y Nutrición, Blvd de milenio 1001, León, Guanajuato, México

(2) Universidad de Guanajuato, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Irapuato, Guanajuato, México

(3) Hospital Infantil de México, Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, Ciudad de México, México

Introducción. El consumo de alimentos contaminados por bacterias representa un riesgo para el humano. Bacterias patogénicas como *Escherichia coli* (*E. coli*), genera brotes epidemiológicos debido a su presencia en productos cárnicos. Cepas patogénicas de *E. coli* como *Escherichia coli* Uropatogénica o UPEC, ocasionan infecciones en vías urinarias en el humano y en especies animales para consumo humano como el cerdo, donde infectan órganos como el riñón que es utilizado para la fabricación de embutidos. La presencia de UPEC y sus toxinas como CNF-1 en alimentos podrían generar daños a la salud, debido a que CNF-1 se ha asociado a la resistencia a antibióticos como el ciprofloxacino, la enfermedad inflamatoria intestinal e incluso el cáncer colorectal. Por esta razón, consideramos importante determinar la presencia de *E. coli* y CNF-1 en riñones de cerdo que sean utilizados para consumo humano. **Objetivo.** Determinar la presencia de *E. coli* y la toxina bacterias CNF-1 de UPEC en muestras de riñón de cerdo. **Materiales y Métodos.** Se recolectaron 24 muestras de riñón de cerdo con las siguientes características 12 riñones con lesiones aparentes (color amarillo) y 12 riñones sin lesión aparente (color rojo). Cada muestra se dividió en 2 partes. Una parte se utilizó para cortes histológicos y tinción de hematoxilina-eosina y la segunda parte del tejido se utilizó para la extracción de DNA total y posteriormente por PCR realizar la detección de bacterias por amplificación de la subunidad 16s, así como, la detección *E. coli* y CNF-1 utilizando oligonucleótidos específicos. **Resultados.** La histología de los riñones mostró la presencia de infiltrados inflamatorios. Así mismo, se observó detecto la presencia de bacterias en las muestras de riñón de cerdo por la amplificación de la subunidad 16S de las bacterias por PCR. Por último, se identificó la presencia de *E. coli* y CNF- 1 por PCR en las muestras de riñón analizadas tanto en las muestras aparentemente sanas como en las muestras con lesión. **Conclusiones.** Existe contaminación en riñones de cerdo destinados para consumo humano por cepas de *E. coli* productoras de CNF-1 representando un riesgo para la salud humana.

Financing: PROGRAMA EMPUJE CIENTIFICO Y TECNOLOGICO: MODALIDAD APOYO A INVESTIGADORES 2020. Instituto de Innovación, Ciencia y Emprendimiento para la competitividad para el Estado de Guanajuato.

LOCUS DE ADHESIÓN Y AUTOAGREGACIÓN (LAA) EN AISLADOS STEC LEE-NEGATIVOS, PROVENIENTES MATERIA FECAL DE GANADO BOVINO PARAGUAYO

Patricia Mabel Acuña Duarte¹, Melisa Florentin¹, Natalia Rojas¹, Fátima Rodríguez¹, Rosa María Guillén Fretes¹
(1) Insituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Microbiología, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo

El Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) se asocia principalmente al consumo de alimentos contaminados con STEC. Inicialmente los cuadros severos como el SUH se asociaron a aislados portadores del Locus de borrado de enterocitos (LEE), sin embargo, en los últimos años se ha observado el aumento de casos graves causados por STEC carentes de este locus (LEE-negativos). El Locus de Adhesión y Autoagregación (LAA) es una isla de patogenicidad, descrita recientemente en aislados LEE-negativos y confiere propiedades de colonización, adhesión y autoagregación y su presencia en STEC se ha visto asociada a casos esporádicos de SUH. Este trabajo observacional descriptivo tuvo el objetivo de detectar la presencia de LAA en aislamientos provenientes de materia fecal de bovinos de 11 establecimientos ganaderos, mediante reacciones de PCR de los módulos I, II, III y el gen ag43, marcador del módulo IV. El 6,5% (5/77) de los aislados presentó la isla LAA de forma completa, con un predominio de co-portación de stx2 (80%), provenientes de bovinos de los Departamentos de San Pedro y Caaguazú. Un 33,8% (26/77) de los aislamientos presentaba la isla LAA incompleta, y se observó que esta forma se encontraba distribuida en todos los establecimientos ganaderos de los 4 Departamentos incluidos. Finalmente, 59,7% (46/77) de los aislados estudiados no presentaba ningún módulo de la isla LAA. Los datos indican que existe una baja prevalencia de LAA en aislados provenientes de bovinos del Paraguay. Este hecho es un aspecto muy positivo, pudiendo ser un indicativo de la circulación de cepas menos virulentas y congruente con el bajo número de casos de SUH reportados a nivel nacional. Por otra parte, abre el horizonte a la búsqueda de otras islas de patogenicidad para profundizar el análisis acerca del nivel de virulencia de los aislados de STEC circulantes en el país.

Financing: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)

Rinosporidiosis laríngea en equinos: reporte de dos casos clínicos en Argentina

Francisco Reynaldi^{1,2}, Ramón Andrés López³, Hugo Orlando Hernández³, Candelaria Zubía³, María Florencia Boffa³, Adriana Massone⁴, Marcos Germán Muriel³, Marco Tizzano,¹

(1) Universidad Nacional de La Plata, Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, calle 60 y 118 s/n, La Plata, Argentina

(2) CCT CONICET La Plata

(3) Universidad Nacional de La Plata., Cátedra de Medicina Equina, Facultad de Ciencias Veterinarias,, calle 60 y 118 s/n, La Plata, Argentina

(4) Universidad Nacional de La Plata, Laboratorio de Patología Veterinaria., Facultad de Ciencias Veterinarias,, calle 60 y 118 s/n, La Plata, Argentina

La rinosporidiosis es una enfermedad que afecta tanto a personas como a animales y causada por *Rhinosporidium seeberi* un Mesomycetozooario de hábitat acuático. No es contagiosa y causa lesiones granulomatosas crónicas, muy vascularizadas y friables en las membranas mucosas de cavidad nasal y nasofaringe, la presentación laríngea poco frecuente. Aquí reportamos y describimos dos casos de presentación laríngea de rinosporidiosis en un macho y una hembra de 10 y 15 años, respectivamente, asistidos en el Hospital Escuela de la FCV-UNLP. Ambos equinos eran utilizados para trabajo a campo, presentaban antecedentes de ruidos respiratorios anormales, muy marcados en ejercicio. La evolución del cuadro fue 1 y 2 años para el macho y hembra, respectivamente. En ambos casos la endoscopia mostró secreción seropurulenta, múltiples nódulos, polipoides, móviles, de superficie irregular no ulcerada, color rojo-rosado-blanco, sobre la superficie de aritenoides y epiglotis, obstrucción del 90% de rima glottidis. La histopatología evidenció tejido fibrovascular, tapizado por epitelio columnar a escamoso, hiperplásico, múltiples estructuras esféricas correspondientes a esporangios, con endosporos en su interior y libres. La rinosporidiosis laríngea es de presentación poco frecuente. Si bien las masas son características e indicativas de la afección, es fundamental detectar la ubicación y extensión de las mismas y realizar histopatología para confirmar el diagnóstico. Este microorganismo no desarrolla en cultivos in vitro, la identificación definitiva se realiza por técnicas de biología molecular. Para ambas muestras, se extrajo el ADN a partir de biopsia recientes. Se utilizaron los primers específicos Rhino 2F (5'-TTTGTGTAGGGGTTCCCTCGC-3') y Rhino 2R (5'-GCAAACCGTTGCTCCAAC-3') en una PCR. La PCR amplificó un fragmento específico de 377 pb, que luego se secuenció (acceso AY372365.1). Existe un subdiagnóstico de la rinosporidiosis, se desconoce cuál es la prevalencia de esta infección en nuestro país, en parte por las limitaciones en la disponibilidad de técnicas moleculares en los laboratorios clínicos.

Financing: Catedra de Micología FCV UNLP

Evaluación del potencial inmunogénico de una librería de péptidos derivados del virus del distemper canino (CDV) mediante herramientas computacionales.

Santiago Rendon-Marin¹, Julian Ruiz-Saenz¹

(1) Universidad Cooperativa de Colombia, GRICA. Grupo de Investigación en Ciencias Animales., Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bucaramanga, Colombia

Introducción: el CDV es el agente etiológico de una enfermedad altamente contagiosa que afecta animales domésticos y silvestres. La glicoproteína H, posee gran variación genética y es considerada el principal determinante antigénico, junto con la proteína F. El CDV tiene alta tasa de sustitución genómica, donde variantes circulantes difieren en un 10% con cepas vacunales. Esto implica consecuencias en el desarrollo de inmunidad y la aparición de enfermedad incluso en animales vacunados, además de la re-emergencia mundial de la infección en fauna silvestre, para la cual, las vacunas comerciales no pueden ser utilizadas debido a que no ha sido probada su seguridad. Se ha evidenciado que el uso de vacunas recombinantes puede ser útil en la inmunización de animales con presencia de inmunidad pasiva de origen materno, siendo seguras para la inmunización de poblaciones animales domésticos y silvestres. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar in silico el potencial inmunogénico de librería de péptidos obtenidos mediante diferentes herramientas computacionales derivados de la información genética de CDV. **Metodología:** se obtuvieron secuencias consenso para las proteínas H y F de CDV con EMBOSS-CONS. Posteriormente, se realizó una predicción de epítopes para moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I y II, así como para células B mediante herramientas bioinformáticas. Se calcularon propiedades fisicoquímicas de los péptidos mediante ProtParam. Además, se modelaron por homología MHC-I y MHC-II de canino con las estructuras cristalográficas molde, 5F1N y 4FQX, respectivamente, así como receptores tipo Toll (TLRs) de canino. MDOCKPEP, HPEPDOCK y CABSDOCK fueron empleados para acoplamiento molecular entre moléculas del MHC y TLRs con epítopes de CDV. Se determinó la seguridad in silico se realizaron con BLASTp, VaxiJen, ToxinPred, ProtParam y AllergenFP. **Resultados:** se generaron 1348 péptidos de H y F. Los modelos de MHC y TLRs caninos obtuvieron un porcentaje de aminoácidos mayor al 90% en regiones energéticamente favorables. La calidad global de los modelos fue similar a la reportada para diversas estructuras en el PDB. Se obtuvieron energías de unión favorables mediante acoplamiento molecular de 12 péptidos de H y F con las MHC y TLRs de canino, para MDOCKPEP, HPEPDOCK. Además, en el análisis de agrupamiento con CABSDOCK, se encontraron densidades altas de clúster para las poses que localizan los péptidos dentro de la hendidura de unión de las MHC de canino. Los valores de predicción de seguridad in silico fueron favorables para el grupo de 12 péptidos de las proteínas H y F, puesto que no mostraron ser tóxicos, además no poseen péptidos homólogos propios en las proteínas de los caninos, exhibiendo su potencial inmunogénico. **Conclusión:** se predijo in silico una librería de péptidos del CDV con potencial inmunogénico y se determinó su capacidad de interactuar con alelos de MHC clase I y II y TLRs de canino mediante acoplamiento molecular con diferentes herramientas. Estudios in vitro e in vivo deben ser desarrollados, con el fin de establecer si estos pueden ser utilizados como una alternativa vacunal universal contra el CDV para caninos domésticos y fauna silvestre.

Financing: COLCIENCIAS -12317124966.

Diagnóstico de linfadenitis caseosa en ovinos

Eréndira de la Fuente Mancera¹, Susana Elisa Mendoza Elvira¹, Francisco Suarez Güemes², José Abel Ciprián Carrasco¹, David Quintanar Guerrero¹

(1) Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-C), México

(2) Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), México

La Linfadenitis Caseosa (LC) es responsable de importantes pérdidas económicas en la industria ovina, su diagnóstico presuntivo está basado en la exploración de los linfonodos superficiales, sin embargo, esto puede tener poco valor en la detección de infecciones tempranas o de la presentación visceral. La enfermedad se detecta siempre a nivel de rastro con la presencia de linfonodos voluminosos con exudado purulento y caseoso. El diagnóstico definitivo de LC ocurre cuando se aísla el agente causal. El objetivo de este estudio fue el aislamiento de *Corynebacterium pseudotuberculosis* a partir de animales clínicamente positivos a LC. Las muestras provenientes de ovinos de pelo o medio pelo de unidades dedicadas al abasto y pie de cría clínicamente positivas a LC fueron remitidas al laboratorio de diagnóstico de Microbiología (FESC), donde se tomaron los datos del animal (edad, sexo y lugar). El exudado caseoso se sembró en agar sangre por 24h 37°C para identificación de colonias características de *Corynebacterium pseudotuberculosis* (colonias blancas, pequeñas, secas y se deslizables en la superficie del agar) y con beta hemolisis para las colonias seleccionadas se les realizó tinción de Gram. Las cepas que fueron bastones G(+) con formación en letras chinas se procedieron a identificar mediante pruebas bioquímicas. Al total de animales (1547) se les realizó una exploración clínica orientada hacia la palpación de los linfonodos superficiales, encontrándose 73 casos clínicos sospechosos de LC. Las cepas aisladas fueron del 100% de hembras, el 63.63% mayores de 4 años, y el 45.45% de abscesos intermandibulares.

Financing: Proyecto PAPIIT IN228516 y PIAP. No. De Becario CONACYT 549319.

Determinación fenotípica de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Klebsiella pneumoniae* aisladas de mastitis bovina

Israel Daniel Ricardo González¹, **Laura Hernández Andrade**², Ana Lilia Del Monte Gutiérrez³, Miguel Ángel Blanco Ochoa⁴

(1) Universidad Nacional Autónoma de México, Medicina y Zootecnia en Rumiantes, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Av. Universidad No. 3000, México, México

(2) CENID Salud Animal e Inocuidad INIFAP, Bacteriología, Km 15.5 Carretera México Toluca, México, México

(3) Investigador Independiente, México, México

(4) Universidad Nacional Autónoma de México, Medicina y Zootecnia en Rumiantes, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Av. Universidad No. 3000, México, México

Dentro de las enterobacterias que pueden afectar a la ubre del ganado lechero, la más conocida es *E. coli*, sin embargo, el género *Klebsiella* está cobrando especial importancia en casos de infecciones intramamarias, alrededor del 4% de los casos de mastitis clínicas se asocian a *Klebsiella pneumoniae*. Existe escasa información sobre la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en las enterobacterias aisladas de mastitis bovina. El objetivo de este trabajo fue determinar fenotípicamente la presencia de BLEE por medio de pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos en cepas de *K. pneumoniae* procedentes de casos de mastitis bovina. 16 muestras de casos de mastitis clínicas, fueron sembradas en agar sangre y Mc Conkey. La identificación se realizó por medio de pruebas bioquímicas tradicionales, obteniéndose 10 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*. Las cepas fueron sembradas masivamente en agar Müller Hilton con turbidez 0.5 de Mac Farland, colocando sensidiscos de Aztreonam, Ceftriaxona y Ceftazidima como prueba de tamizaje, para detectar BLEE derivadas de TEM, SHV, PER-2 y CTXM, se seleccionaron las que tuvieran halos de inhibición mayores a: ATM 27 mm, CAZ 22 mm y CRO 25 mm. La detección de BLEE se realizó por el método Hodge, Se utilizó una placa por cada disco de Cefotaxima, Ceftriaxona, Aztreonam y Ceftazidima, se realizó una estría de 2 cm de las cepas problemas, desde el centro hacia afuera del disco. La presencia de la enzima se identificó al observar una deformación del halo de inhibición de la cepa de *E. coli* ATCC 25922 al disco con el sustrato en forma de hendidura. Durante la prueba de tamizaje solo 4/10 aislamientos de *K. pneumoniae* resultaron sugerentes a presencias de BLEE. Al realizar la prueba doble de Hodge solo dos mostraron el patrón de forma de campana, representando el 20%. Si bien en los resultados encontrados en el presente trabajo, solo dos cepas de las 10 analizadas de *K. pneumoniae* presentaron evidencia fenotípica de presencia de BLEE es importante recalcar que las otras dos que resultaron sugerentes presentaron grados de resistencia intermedios a los antimicrobianos analizados. La importancia de estas BLEE y su presencia en animales de producción radica en la posible transmisión y propagación de estos genes por medio de infecciones zoonóticas, se ha descrito ya la posible transmisión de BLEE que produce *E. coli* de ganado bovino y porcino a humanos, esto a través de la asociación de genes de resistencia encontrados tanto en cepas de origen animal y humano. Encontrar dos cepas de *K. pneumoniae* con presencia de estas BLEE denota el riesgo de las posibles consecuencias de la diseminación de estos genes de resistencia entre los animales de producción en México y su posible efecto en la salud pública. Se debe poner énfasis en las actividades de prevención de mastitis y en el correcto uso de las terapias antimicrobianas con el fin de disminuir la prevalencia de infecciones intramamarias causadas por enterobacterias.

Financing: Recursos autogenerados Bacteriología CENID Salud animal e inocuidad INIFAP

Explorando el rol de las citoquinas en peces: IL-27 en el context de la infección por IPNV

Gardenia Payne Delíz¹, Nicolás Maldonado², Melina Villalba¹, Victor Olavarria¹

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Isla Teja S/N, Valdivia, Valdivia, Chile

(2) Universidad San Sebastián, Departamento De Ciencias Biológicas y Química, Facultad De Medicina y Ciencia, Lago Panguipulli 1390, Puerto Montt, Chile

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV), afecta principalmente especies salmónidas en cultivo, en las que genera una infección sistémica de mortalidad variable que puede llegar hasta el 100%. El virus genera persistencia en organismos sobrevivientes a un brote infeccioso, los que se mantienen de manera constante excretando la partícula viral, representando un riesgo para otros peces susceptibles. Se ha indicado que IPNV genera un ambiente antiinflamatorio que podría estar asociado al desarrollo de una débil respuesta inmune celular y humoral explicando parcialmente la sobrevida del virus y el establecimiento del estado portador asintomático y/o infección persistente. El desbalance en la expresión de citoquinas se ha comprobado tanto en salmón del atlántico como en trucha arcoíris. Este hecho ha conducido al estudio del perfil de expresión de citoquinas pro y antiinflamatorias en presencia de la infección viral. La IL-27 es una citocina heterodimérica compuesta por la subunidad p28 y la cadena β EBI3, miembro de la familia IL-6/IL-12. Es producida por monocitos/macrófagos activados y células dendríticas. Su receptor está compuesto por la glicoproteína 130 (gp130) y la cadena α del receptor IL-27 (IL-27R α) que activan tanto la vía JAK/ STAT1/3 como la ruta de las MAPK. La IL-27 ejerce influencias diversas en la respuesta inmune, no solo juega un papel importante en la regulación de la diferenciación de las células Th vírgenes, sino que también posee propiedades antiinflamatorias. En peces han sido identificados y poco caracterizados ortólogos tanto de las proteínas que conforman la IL-27 como de su complejo receptor. Su perfil de expresión en el contexto de la infección por IPNV no ha sido explorado. El objetivo de este trabajo es realizar la caracterización molecular de la IL-27 así como analizar su expresión génica en respuesta a la infección con IPNV mediante PCR cuantitativo en tiempo real (RT-qPCR) para lo que se utilizaron modelos celulares in vitro y ex vivo. Utilizando las herramientas bioinformáticas disponibles se realizó la caracterización molecular de los dos parálogos de p28 (a y b) presentes en peces salmónidos y de Ebi3 para lo que recurrimos al genoma de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Las moléculas que conforman la IL-27 en trucha mantienen similitud aminoacídica con sus ortólogos en mamíferos. Residuos críticos involucrados en la interacción con Ebi3 y el receptor gp130 se mantienen conservados. La modelación de la estructura de p28 a y b utilizando el Swiss Model soporta su similitud estructural con la IL-6. En el caso de Ebi3 la similitud estructural se produjo con el receptor β de la IL-6. El análisis de expresión reveló que tanto en células CHSE-214, SHK-1 y cultivos primarios de riñón cefálico de trucha arcoíris se produce la regulación positiva de p28 a y b, Ebi3 así como IL-27R α y gp130. En general, los resultados sugieren que la IL-27 podría desempeñar un rol en la patogénesis de IPNV y justifica la exploración del mecanismo molecular preciso a través del cual se induce su expresión, así como sus efectos funcionales en el sistema inmune de los peces.

Financing: •Beca ANID Doctorado Nacional 2017

Producción de biopelícula en agar rojo congo por *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativos aislados de mastitis bovina

Laura Hernandez Andrade¹, Malva Dánae Pérez Gerardo², Israel Daniel Ricardo González³, Laura Jaramillo Meza⁴, Fernando Díaz Otero⁵, Marco Antonio Santillán Flores⁶, Miguel Ángel Blanco Ochoa⁷

(1) CENID Salud Animal e Inocuidad INIFAP, Bacteriología, Km 15.5, Carretera México Toluca, México, México

(2) Universidad Nacional Autónoma de México, Posgrado, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Av. Universidad No. 3000, México, México

(3) Universidad Nacional Autónoma de México, Medicina y Zootecnia en Rumiantes, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Av. Universidad No. 3000, México, México

(4) CENID Salud Animal e Inocuidad INIFAP, Inmunología, Km 15.5 Carretera México Toluca, México, México

(5) CENID Salud Animal e Inocuidad INIFAP, Inmunología, Km 15.5 Carretera México Toluca, México, México

(6) CENID Salud Animal e Inocuidad, Bacteriología, Km 15.5 Carretera México Toluca, México, México

(7) Universidad Nacional Autónoma de México, Medicina y Zootecnia en Rumiantes, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Av. Universidad No. 3000, México, México

La mastitis es causada por una gran diversidad de agentes etiológicos entre los de mayor prevalencia e incidencia se encuentra *Staphylococcus aureus* en los últimos años especies de *Staphylococcus coagulasa* negativos (SCN) se han aislado de casos de mastitis subclínica y clínica, las especies que se han aislado con mayor frecuencia son *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. xylosum* y *S. epidermidis*. La capacidad de algunas cepas de *Staphylococcus* para producir biopelícula ha sido considerada como índice de virulencia, interfiere en los mecanismos de defensa del huésped, formación de anticuerpos. El objetivo fue determinar la capacidad de producir biopelícula por *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativos aislados de mastitis bovina. Se obtuvieron 26 muestras de leche provenientes de casos de mastitis, de hatos lecheros de Querétaro y Coahuila, México, fueron sembradas en agar sangre y agar sal manitol. En agar sal manitol se observó el cambio de coloración del medio de cultivo para darlo como positivo a manitol. La identificación de las especies se realizó con: la prueba de coagulasa en tubo utilizando plasma de conejo, pruebas bioquímicas tradicionales como oxido-fermentación, oxidasa y catalasa, además de utilizar microsistemas de identificación API Staphy Biomeriux, utilizando la plataforma de identificación de estos microsistemas. Se utilizó agar infusión cerebro corazón suplementado con 3.6% de sacarosa y 0.08% de colorante rojo congo, los cuales fueron esterilizados simultáneamente en autoclave. Las cepas de *S. aureus* y SCN fueron sembradas e incubadas durante 24 h a 37°C, posteriormente se volvió a incubar durante un nuevo período de 24 h, se utilizó como control positivo la cepa Cowan de *Staphylococcus aureus*. La observación de colonias negras y de aspecto cristalino se consideró como positivas, colonias rojas en el agar rojo congo se consideraron negativas para la producción de biopelícula. Se obtuvieron 26 cepas del género *Staphylococcus*, identificándose: *Staphylococcus aureus* (30.77%), *S. sciuri* (26.93%), *S. intermedius* (11.54%), *S. saprophyticus* (7.7%), *S. xylosum* (7.7%), *S. simulans* (3.84%), *S. capitis* (3.84%) y *S. lugdunensis* (3.84%). Las características que se observaron en el Agar rojo congo fueron el color de las colonias; negro, gris, brillo de la superficie, brillante o mate y la superficie lisa o rugosa. El 100% de las cepas de *S. aureus* y de los SCN fueron positivas formaron colonias negras brillantes por lo que fueron positivas a la formación de biopelícula. La utilización del agar rojo congo para determinar la capacidad de producción de biopelícula es un método rápido y reproducible, es un método fácil de implementar en un laboratorio de diagnóstico. En este estudio se demostró la capacidad de producción de biopelícula en el 100% de las cepas, esto es importante ya que puede ser la falla de los tratamientos en los casos de mastitis bovina. La producción de biopelícula es independiente de las especie de *Staphylococcus*, en este estudio se encontró la formación de biopelícula en siete especies de SCN y en *Staphylococcus aureus*.

Financing: Recursos autogenerados bacteriología CENID Salud animal e Inocuidad INIFAP

ANÁLISIS GENÓMICO E IDENTIFICACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN *Escherichia coli* MULTIDROGORESISTENTE AISLADOS DE CERDOS BAJO CRIANZA INTENSIVA EN LIMA, PERÚ

Susana Asencios¹, Carla Duran¹, Yennifer Ignacion¹, Dennis Carhuaricra¹, Luis Luna¹, Raúl Rosadio¹, **Lenin Maturrano¹**

(1) Grupo SANIGEN, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

Los sistemas de producción animal como la producción de cerdos para consumo humano son considerados como potenciales reservorios de genes de resistencia que pueden diseminarse, afectando no solo la salud animal sino también la salud pública. En el presente trabajo se secuenciaron los genomas de 4 aislados de *Escherichia coli* multidrogoresistentes obtenidos de cerdos clínicamente sanos, procedentes de diferentes granjas bajo crianza intensiva ubicados en Lima, Perú. Empleando herramientas de análisis bioinformático se logró reconocer el grupo MLST, que resultó ser diferente en cada uno de ellos. Se estableció que los aislados de *E. coli* fueron no patogénicos ya que no se ubicaron en el genoma los principales genes de patogenicidad y virulencia característicos. Se identificaron un total de 35 diferentes genes de resistencia antimicrobiana adquirida, incluyendo 1 gen de resistencia a colistina y 5 diferentes genes que codifican betalactamasas de amplio espectro. Se identificaron también elementos móviles como plásmidos, integrones, secuencias de fagos y secuencias de inserción y se estableció su asociación con la resistencia antimicrobiana adquirida. Los plásmidos encontrados en el contexto de genes de resistencia adquirida pertenecieron a los grupos de incompatibilidad: IncFII_1, IncN_1, ColRNAI_1, IncFIB_1 probablemente relacionados a los genes: blaTEM-1B de resistencia a betalactámicos y los genes ant (3'')-Ia_1, aph (3')-Ia_9, aph (3')-Ila_2 de resistencia a aminoglucósidos. De forma similar, se detectaron 3 secuencias de fagos completos relacionados a la resistencia a tetraciclinas, macrólidos-lincosamidas-estreptograminas y betalactámicos, respectivamente. También se detectó una amplia variedad de familias de secuencias de inserción cercanas a genes de resistencia antimicrobiana adquirida, siendo IS3 e IS4 las más abundantes. Los resultados demuestran la existencia de genes de resistencia antimicrobiana siendo transportados por elementos genéticos móviles circulando en bacterias aisladas de centros de producción porcina en Lima. La identificación de los genes de resistencia a antibióticos y los mecanismos que facilitan su propagación contribuirá a la búsqueda de alternativas que minimicen los riesgos de diseminación de esta resistencia hacia otros ambientes.

Financing: Proyecto de investigación financiado por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica – FONDECYT (CONCYTEC, Perú), contrato N° 127-2018-FONDECYT.

Evaluation of the utilization of an extruded diet in addition to acid to the drinking water on changes in gut microbiome composition and productive parameters in rabbits

Luis Alfonso Valenzuela Villa¹, Antonio Contreras², Jennifer Villarroel², Luis Olguin³, Jaime Trincado², Soledad Gutierrez⁴, Paola Navarrete⁴, Patricio Dantagnan⁵, Adrián J. Hernández⁵, Alex Cabrera⁶, Pilar E. Ulloa³

(1) Omics Lab Spa, Santiago, Chile

(2) Universidad de Las Américas, Escuela de Medicina Veterinaria, Providencia, Santiago, Chile

(3) Universidad de Las Américas, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Santiago, Chile

(4) Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Santiago, Chile

(5) Universidad Católica de Temuco, Departamento de Ciencias Agropecuarias y Acuícolas, Laboratorio de Nutrición y Fisiología de Peces, Núcleo de Investigación en Producción Alimentaria, Facultad de Recursos Naturales, Temuco, Chile

(6) Universidad de Chile, Departamento de Agroindustria y Enología, Santiago, Chile

In rabbit farming during weaning stage there is a high mortality rate since the beginning of exogenous food causes stress in small rabbits, which in most cases manifests with profuse diarrhea better known as epizootic enteropathy. This pathology is accentuated when being fed with commercial or pelletized diets which are not elaborated under an extrusion process. In addition, some studies have incorporated organic acid into drinking water to help with gastric acidity (pH 4.3). Nowadays the elaboration for animal foods using extrusion technology which include high temperature (100-150 °C) and high pressure (30-50 bar) in a short time (30-50 sec) reduce antinutritional factors, improve food hygiene condition and efficiency of nutrients utilization. The aim of this trial was to evaluate the utilization of an extruded diets in addition to acid to the drinking water and its association to changes in gut microbiome composition and productive parameters. Fifteen individual rabbits were feed extruded diet (EX) or pelletized diet (PE), or commercial diet (CO, as a control) for 21 days of feeding (from 35 to 56 post weaning day, initial weight 479±17). All treatments were complemented with the incorporation of organic acid (AC) to the drinking water vs drinking neutral water (NW) (pH 7.0, control). The productive parameters showed better response in rabbits fed with EX+AC diet, vs pelleted or commercial diets with acidic or neutral water. Rabbits feed with EX+AC diet showed 81% of weight gain (WG), followed by the EX+NW (72% WG), CO+AC (68% WG) and PE+AC (59% WG). Additionally, the Rabbits fed with EX+AC diet or these with neutral water showed significant lower food consumption (959.18 g and 856.44 g respectively) compared to the other diets and have a significantly lower conversion factor of 2.65, indicating that the animal must have a lower consumption of food to reach 1 kilogram of live weight. A significant highest survival was registered in rabbit fed EX+AC diet, with 73.3% at the end of the experimental period vs, 66% and 33% with CO+AC or PE+AC diets respectively. Microbiome analysis was performed using DADA2 R package, adapters from the raw FASTQ files were removed, and reads with a quality index greater than 30 (Q-Phred > 30) were trimmed and selected for amplicon sequence variant (ASV) detection, quantification and taxonomy assignment by using SILVA database. Statistical analyzes revealed no significant changes (p-value>0.05) between acid and control water condition, suggesting that acidifying drinking water do not largely affect intestinal conditions. Microbiome results revealed that Firmicutes is the most abundant phylum, followed by Verrucomicrobia and Actinobacteria. No changes in community composition were observed due acid water condition nor food elaboration process (adonis test p value > 0.05) probably since nutrients composition among diets did not vary. Thus, modifications in food processes as extrusion in synergy with the incorporation of acidic water in the rabbit potentially favor other processes in host as survival and productive parameters providing a more digestible, palatable, and safe food and optimizing the metabolization of nutrients. Financing: UDLA grant: ID PI2019069

Ehrlichia canis en caninos domésticos del Área Metropolitana de Buenos Aires: distribución espacial y estacional

María Nazarena De Salvo¹, Paula Marina Díaz Pérez¹, Paula Lorena Martín², Gabriel Leonardo Cicuttin¹

(1) Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

(2) Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, La Plata, Argentina

La ehrlichiosis monocítica canina (EMC) es una enfermedad bacteriana transmitida por vectores de distribución mundial, y causada por *Ehrlichia canis* (familia Anaplasmataceae orden Rickettsiales). La infección afecta tanto a cánidos domésticos como silvestres. La transmisión de *E. canis* a caninos susceptibles ocurre principalmente por la picadura de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*, y en menor medida por transfusiones sanguíneas. En el Instituto de Zoonosis Luis Pasteur de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) se realiza el diagnóstico de EMC mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, según sus siglas en inglés). Para ello se utiliza una PCR que amplifica un fragmento del gen codificante para la subunidad 16S del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr 16S) de la familia Anaplasmataceae. Entre los meses de febrero de 2016 y enero de 2017, se recibieron 1478 muestras de sangre entera de caninos con sospecha de EMC procedentes del Área Metropolitana de Buenos Aires (que incluye CABA y 40 municipios del Gran Buenos Aires -GBA-). Los objetivos del presente trabajo fueron confirmar molecularmente la presencia de *E. canis* en muestras positivas a la PCR para familia Anaplasmataceae y estudiar la distribución estacional y espacial en GBA y de CABA. Se realizó una PCR de punto final especie-específica para amplificar un fragmento de 409 pares de bases, del gen que codifica la subunidad 16S del ARNr de *E. canis*. De las 1478 muestras remitidas con sospecha de EMC, 269 resultaron positivas mediante la PCR de tamizaje (61,3% -165- provenían de 14 municipios de GBA y 38,7% -104- restante de 14 de las 15 comunas en las cuales se divide CABA). La presencia de *E. canis* fue confirmada mediante la PCR específica en el 77,3% (208/269) de las muestras analizadas (146/165 pertenecientes a GBA y 62/104 a CABA). Con respecto a la distribución de las muestras positivas de acuerdo a su procedencia, los presentes resultados muestran que hay un mayor número en GBA que en CABA, con diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Estos hallazgos coinciden con los registrados por otros autores, quienes demostraron que uno de los principales factores de riesgo asociados a la infección con *E. canis* era el lugar de residencia; los caninos que residen en el GBA podrían estar más expuestos a la infección dados ambientes favorables para la presencia del vector y circulación del patógeno, así como una mayor infestación por garrapatas. Por último, la distribución estacional mostró dos picos de positividad, uno en el mes de marzo y otro en noviembre, que corresponderían a los meses en los que aumenta la infestación de los caninos con garrapatas *R. sanguineus*. En conclusión, el diagnóstico de *E. canis* por métodos moleculares permite confirmar la sospecha de un caso clínico y de esta manera conocer la distribución estacional de la enfermedad y los factores asociados a su aparición en determinada población canina.

Financing: Propia institución.

EFICACIA PROTECTORA DE LA VACUNA BCG DE *Mycobacterium bovis* POR SEGUIMIENTO DE LA RESPUESTA INMUNE A LOS ANTÍGENOS ESAT-6 Y CFP-10 EN BOVINOS NATURALMENTE EXPUESTOS

Laura Jaramillo Meza¹, Fernando Díaz-Otero¹, Anabelle Manzo Sandoval¹

(1) CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Laboratorio de Inmunología, Carretera Federal México-Toluca Km 15.5 Col. Palo Alto C.P. 05110 Alcaldía Cuajimalpa de Morelos, Ciudad de México, México

La vacunación contra la tuberculosis bovina se considera la mejor alternativa de control en hatos de alta incidencia; sin embargo, existe el inconveniente, de que el uso de la vacuna BCG puede inducir reactividad en la prueba de la tuberculina. Empero, los antígenos ESAT-6 y CFP-10, presentes en las diferentes especies del Complejo *M. tuberculosis*, pero ausente en las subcepas de BCG podría servir en una prueba de diagnóstico diferencial. En este trabajo, realizado en condiciones de campo, se evaluaron los antígenos referidos para dar seguimiento de la eficacia protectora de la vacuna BCG-Phipps y determinar posibles infecciones en los animales ya vacunados. El estudio se realizó en un hato con prevalencia alta de tuberculosis, del cual se vacunaron 35 becerras con la vacuna BCG (106 UFC) y como grupo testigo se tuvieron 30 becerras sin vacunar. Las becerras permanecieron en el hato durante toda la fase de estudio, y muestrearon semanalmente durante el primer mes, y posteriormente cada 30 días por espacio de siete meses para evaluar la producción de IFN- γ en cultivos de sangre completa estimulados con los antígenos PPD-bovino y PPD aviar. En la estimulación in vitro, también se emplearon los antígenos ESAT-6, y CFP-10 para la diferenciación de animales vacunados de infectados. El IFN- γ liberado en los cultivos fue evaluado mediante un ELISA sándwich comercial. Se efectuó el análisis estadístico de T-Student empleando el programa JMP 5.0.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), para la comparación de resultados entre grupos en los diferentes tiempos de muestreo. En el grupo vacunado se registró un incremento progresivo en los niveles de producción de IFN- γ con el PPD bovino durante el primer mes posvacunación (p.v.), siendo significativos en relación al grupo control a los 21 y 30 días. En las semanas posteriores la respuesta decae paulatinamente, hasta ser comparable con la del grupo testigo luego de los tres meses p.v. No se observó diferencia significativa en los niveles de IFN- γ hacia ESAT-6 y CFP-10 entre animales vacunados y no vacunados durante todo el estudio. No obstante, se observó un incremento hacia ESAT-6 en uno de los animales al día 30 p.v. De la misma manera, en animales no vacunados, se observó una producción de IFN- γ alta y sostenida hacia ESAT-6 en 2 animales, en uno desde el inicio del estudio hasta el día 30, y el segundo del día 7 al día 21 con valores oscilantes. Los niveles para estos antígenos no volvieron a subir durante el resto del estudio para animal alguno. Las respuestas bajas e intermitentes de IFN- γ hacia ESAT-6 y CFP-10 pueden deberse a la sensibilización por micobacterias no tuberculosas, varias de las cuales contienen también los genes que codifican estas proteínas, que podrían estar circulando en el hato. Una definición mayor en el diagnóstico podría lograrse si se emplean epítopes específicos al complejo *M. tuberculosis*, más que el empleo de las proteínas completas. Como tal, su uso herramienta diagnóstica en los ensayos de liberación de IFN- γ no es confiable bajo condiciones naturales de campo.

Financing: Proyecto Fiscal No. 142 945 340 13 "EVALUACIÓN DE BIOMARCADORES INMUNES ASOCIADOS A LA EFICACIA VACUNAL CONTRA LA TUBERCULOSIS BOVINA Y SU EFECTO COMPARATIVO CON LA MEJORA DEL ESTADO SANITARIO DE LOS HATOS"

Producción de antígeno de *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Eréndira de la Fuente Mancera¹, Susana Elisa Mendoza Elvira¹, Francisco Suarez Güemes², José Abel Ciprián Carrasco¹, David Quintanar Guerrero¹

(1) Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-C), México

(2) Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), México

La linfadenitis caseosa (CL) causa importantes pérdidas económicas en la industria de la cría de pequeños rumiantes como en la depresión de la piel, la calidad y cantidad de leche disminuye y la canal puede ser confiscada en el rastro. Su diagnóstico presuntivo se basa en el examen de los linfonodos superficiales; sin embargo, esto puede tener poco valor para detectar infecciones tempranas o su manifestación visceral. El cuadro visceral casi siempre se detecta en el matadero, por la presencia de linfonodos inflamados que muestran un exudado caseoso. El objetivo de este estudio fue la identificación de estructuras antigénicas de aislamientos de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Las muestras provenientes de ovinos de pelo o medio pelo de unidades dedicadas al abasto y pie de cría clínicamente positivas a LC fueron remitidas al laboratorio de diagnóstico de Microbiología (FESC). De las cepas aisladas se eligieron dos, para obtener posteriormente antígenos. Se obtuvo suero de un animal donde se aisló una de las cepas, se procedió a evaluar los antígenos por Western Blot. La titulación del suero utilizado se realizó mediante la técnica de la inhibición de la hemólisis. El resultado del Western blot fueron las siguientes bandas: 11.66, 16.84, 31.06, 33, 34, 42.19, 50.69, 60.91, 68.89, 77.81, 93.5 y 126.98 kDa. El título del suero fue de 1/64. En conclusión, los antígenos somáticos obtenidos fueron reconocidos por el suero del ovino clínicamente enfermo y se encontraron bandas que coinciden con las reportadas por otros autores. Al utilizar el suero y cepa bacteriana del mismo animal se observaron mayor número de bandas, a diferencia de aquella cepa bacteriana perteneciente a otro animal, siendo de gran importancia para la elaboración de probables inmunógenos.

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA RESPUESTA INMUNE INDUCIDA EN BECERRAS INMUNIZADAS CON DIFERENTE DOSIS DE LA VACUNA BCG Y DEL EXTRACTO PROTEICO DEL FILTRADO DE CULTIVO EN CONDICIONES NATURALES DE DESAFIO

Fernando Díaz Otero¹, Laura Jaramillo Meza¹, Anabelle Manzo Sandoval¹, Rafael Pérez González², Heber Martínez Estrella³

(1) CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Inmunología, Carretera Federal México-Toluca Km 15.5, Ciudad de México, México

(2) FES-CUAUTITLÁN UNAM, Bovinos de Leche, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Cuautitlán-Teoloyucan Km 2.5, Estado de México, Méico

(3) CAITSA, S.A. de C.V., profesionista Independiente, Tizayuca, Hidalgo, México

La Tuberculosis bovina constituye un problema de difícil erradicación en los sistemas productivos-bovino-leche. Actualmente las estrategias de control se fundamentan en la eliminación o segregación de animales infectados. Sin embargo, debido a la carencia de esquemas de compensación por el alto costo que ello representa, se han considerado otras alternativas de control como lo es la vacunación. La BCG es una bacteria viva atenuada que induce preferentemente una respuesta inmune celular tipo Th1 protectora ante desafíos controlados y bajo condiciones de campo. Durante muchos años se ha puesto en tela de juicio su efectividad, lo cual puede estar relacionado con la dosis administrada. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar y comparar la respuesta inmune inducida en becerras inmunizadas con diferente dosis de vacuna BCG, o con el extracto proteico del filtrado de cultivo (CFPE) de *M. bovis*, bajo condiciones de campo. Las dosis de BCG evaluadas fueron: 1x10⁴, 1x10⁵ y 1x10⁶ UFC; y las del CFPE fueron: 300 mg y 600 mg, para lo cual se emplearon 10 becerras menores a un mes de edad por grupo, incluyendo un grupo control. Periódicamente se tomaron muestras de sangre con y sin anticoagulante de las becerras de los diferentes grupos para evaluar por un lado niveles de anticuerpos por ELISA, y por otro lado la producción de IFN- γ , IL-17 y la IP-10 (proteína inducible por interferón IFN- γ), en cultivos de sangre completa y en cultivos de CMNSP estimulados con el CFPE. No se observaron incrementos significativos en los niveles de anticuerpos en ningún momento para los diferentes grupos vacunados y control. Sin embargo, si existieron diferencias importantes en la producción de las citocinas y quimiocina evaluadas en los grupos inmunizados con BCG a los 30 días p.v. en cultivos de sangre completa, pero no para los grupos inmunizados con las diferentes dosis de CFPE en ese periodo. A los 18 meses p.v., se observaron diferencias significativas en los niveles de producción de estos biomarcadores en los SNC de CMSP prolongados por 9 días, para los diferentes grupos inmunizados con respecto a los cultivos de sangre completa, señalando la proliferación y activación de las poblaciones de memoria efectora Th17 y Th1, luego del estímulo antigénico. Ello indica el establecimiento de una respuesta inmune celular protectora en los animales vacunados con BCG bajo condiciones de campo, la cual se indujo aun con la dosis más baja de la vacuna evaluada en el presente análisis.

Financing: Proyecto financiado con recursos Fiscales del INIFAP, No SIGI 142 945 340 13

MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL, BIOTECNOLOGÍA Y BIOINDUSTRIAS.

Analysis of the performance of different strains of *Saccharomyces cerevisiae* in high gravity alcoholic fermentation

Ana Paula M. Silva¹, Layna Amorim Mota², Liandra Spironello¹, Cristina Reatto Zambuzzi¹, Marcelo Pego Gomes¹, Antonio Sampaio Baptista¹

(1) School of Agriculture & Luiz de Queiroz - USP, Dept. of Agroindustry, Food and Nutrition, Alameda dos Alecrins - Agronomia, Piracicaba, Brazil

(2) Center for Nuclear Energy in Agriculture - USP, Av. Centenário, 303 - São Dimas, 13400-970, Piracicaba, Brazil

It is extremely important to develop strategies for the improvement of high productivity fermentation systems in the bioethanol industry. Fermentation with high alcohol content (Very High Gravity – VHG, from 200 g L⁻¹ of total reducing sugars – T.R.S.) leads to reduced waste generation, reduced energy consumption and several technical, economic and environmental advantages. The limiting factor is the tolerance of yeasts to the most diverse stressors in the fermentation medium. However, new challenges arise, such as minimizing the effects of osmotic and alcoholic stress, to which yeasts are subjected. In this context, the present work aimed to study the fermentation profile of three industrial strains: Pedra-2 (traditionally used in the sugarcane ethanol process), Fleischmann (traditionally used in the bakery industry) and Thermosacc (traditionally used in the process of ethanol from corn hydrolyzate) in fermentation processes conducted in single batch. Fermentation was carried out with must obtained from sugar cane syrup 200g L⁻¹ of ART and later clarified and sterilized in flowing steam. Afterwards, centrifugation was performed at 4000 rpm at 20°C and sterilized again. The bioreactors used for the fermentations were 250 mL Erlenmeyers containing 150 mL of musts previously prepared and inoculated with the addition of 3% of each yeast. Fermentations were carried out in a shaker model Minitron, brand Infors HT®, under agitation of 150 rpm and 30°C ± 1°C. The results were submitted to the Tukey test (p<0.05, Upper and lower case letters are in relation to Tukey's test and bold), it was possible to observe that the yeasts presented different performance in the first 18 h of fermentation, and this behavior is expected, since Pedra-2 and Fleischmann are used in the ethanol process of sugar cane syrup, while Thermosacc yeast adapted to the ethanol process from corn hydrolyzate. With 24 h of fermentation, the three yeasts showed similar behavior in relation to the conversion of sugars into ethanol, Pedra-2 (1.13g of T.R.S. Cb), Fleischmann (1.50 g of T.R.S. Ca) and Thermosacc (1.20 g of T.R.S. Cab), possibly because the Thermosacc is a yeast adapted to the ethanol process from corn hydrolyzate, while the others are usually used in the ethanol process from sugar cane syrup. In relation to cell viability, during the initial 6 hours of fermentation, the 3 yeasts had similar behavior in relation to viability. After 9 h it was observed that the viability of Thermosacc decreased rapidly, reaching 25.2% Cb) in 24h, Pedra-2 67.7% Ba) and Fleischmann 68.06% Ba). Regarding the alcohol content, with 18 h of fermentation, Pedra-2 around 10.10 %v/v (Aa) and Fleischmann 9.96 %v/v (Aa) presented the best performance compared to Thermosacc 9, 27 %v/v (Bb). With 24 ha Thermosacc had the highest sugar conversion rate to ethanol 10.04 %v/v (Aa), Pedra-2 9.53 %v/v (Cb) and Fleischmann 9.23 %v/v (Bc).

Financing: CAPES

Fermentación del cacao ecuatoriano; Metabarcoding, interacciones microbianas y una nueva estrategia de fermentación

Luis Santiago Guerra¹, Cristina Cifuentes², Stefan Weckx², Jenny Ruales¹

(1) Escuela Politécnica Nacional, Departamento de Ciencia de los Alimentos y Biotecnología, Ingeniería Química y Agroindustrias, Ladrón de Guevara E11-2530, Quito, Ecuador

(2) Vrije Universiteit Brussel, Industrial Microbiology and Food Biotechnology, Bioengineering Sciences, Pleinlaan 2, B-1050, Bruselas, Bélgica

La demanda de cacao es cada vez mayor por los mercados internacionales, en especial el cacao fino de aroma. Latinoamérica es el mayor productor de cacao de especialidad en el mundo, además, de su importancia económica e histórica en la región. Para la obtención de las cualidades organolépticas finales del chocolate y sus derivados, depende de varios procesos postcosecha, dentro de los cuales el proceso de fermentación juega un rol importante para que las almendras de cacao presenten un perfil de calidad en aroma y sabor. Sin embargo, este proceso cambia según la región y las técnicas de cada finca, haciendo que el producto fluctúe en sus características finales. Ecuador es uno de los mayores exportadores, aunque la agroindustria del cacao, no ha tenido un desarrollo significativo en ningún aspecto de calidad y valor agregado. Por esta razón, la importancia del estudio de la biodiversidad donde interactúan levaduras, bacterias ácido lácticas y ácido acéticas que se encuentran presente durante la fermentación del cacao. Por otra parte, la observación de una nueva estrategia de fermentación mediante el uso de prototipos tipo hexagonal que permitan manejar de forma inocua el proceso, evitando contaminación cruzada y la obtención final de un producto de calidad. Además, de observar cómo influye estos fermentadores en el desarrollo de la microbiota. Para este ensayo, se realizó un diseño de bloques completamente al azar. Por medio del estudio de metabarcoding en ecosistemas microbianos cultivables de la fermentación, en las que se tomó muestras de las almendras en diferentes tiempos de fermentación. El ADN obtenido fue amplificado con primers de la región V4 para bacterias e ITS para hongos y levaduras. La secuenciación se realizó por síntesis de Illumina, obteniendo archivos en formato fasta que fueron procesados por el software DADA2 versión 1.4 del lenguaje R. A continuación, se identificó la taxonomía con las bases de datos SILVA y UNITE. Finalmente, se analizó la biodiversidad presente, por medio de los índices diversidad alfa y el análisis de PERMANOVA con los datos de diversidad beta. Con respecto a diseño experimental, se encontró que no existen efectos significativos entre los dos tipos de fermentadores ($p > 0,05$) en el desarrollo tanto para levaduras como bacterias. Dentro de los géneros encontrados en levaduras están *Issatchenkia*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, entre otras, que se encargan del consumo de azúcares y la producción de alcoholes. Mientras que en bacterias están *Tatumella*, *Acetobacter*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, que liberaran productos ligados al perfil organoléptico final de las almendras. El uso de los prototipos da buenos resultados con respecto al desarrollo de microorganismos característicos de la fermentación de cacao. Como un primer indicio en la optimización de este proceso que habitualmente se realiza de forma espontánea. Llegando fortalecer el desarrollo productivo de las agroindustrias del cacao en Ecuador.

Financing: El proyecto "Un enfoque combinado de investigación ómica y bioinformática para mejorar los procesos espontáneos de fermentación de granos de cacao ecuatoriano." En cooperación Bélgica - Ecuador, es financiado por VLIR-UOS (VUB-EPN).

Alcoholic batch fermentation fed from corn hydrolysate using *Saccharomyces cerevisiae* strips

Ana Paula M Silva¹, Layna Amorim Mota², Marcelo Pego Gomes¹, Bianca Chaves Martins¹, Laysa Maciel Lewandowski Meira Prado¹, Antonio Sampaio Baptista¹

(1) School of Agriculture "Luiz de Queiroz" - USP, Dept. of Agroindustry, Food and Nutrition, Alameda dos Alecrins - Agronomia, Piracicaba, Brazil

(2) Center for Nuclear Energy in Agriculture - USP, Av. Centenário, 303 - São Dimas, Piracicaba -, Brazil

In the bioethanol industry, the development of strategies to overcome the stress factors caused by high gravity fermentation (V.H.G), is of paramount importance for higher productivity, despite the V.H.G having the most diverse technical, economic and environmental advantages. As a result, fed fermentation appears as an alternative to minimize the effects of osmotic and alcoholic stress to which yeasts are subjected. In this context, the present work aimed to study the fermentation profile of two yeasts: Pedra-2 and Thermosacc, in musts obtained from corn hydrolyzate. Fermentation was carried out with must obtained from corn hydrolyzate, and subsequently sterilized in flowing steam. The bioreactors used for the fermentations were 250 mL Erlenmeyers containing 150 mL of musts previously prepared and inoculated with the addition of 3% of each yeast. Fermentations were carried out in a shaker model Minitron, brand Infors HT®, under agitation of 150 rpm and 30°C ± 1°C. The feeding took place through a Liquid Inject System (LIS), equipment that performs automated feeding of liquids into shake flasks. The fermentation process started with a base must with 134.31g of S.R.T. (total reducing sugars) for 4 hours and then began feeding with must with 224.59g of A.R.T. for approximately 24 h, total fermentation time was 70 h. The follow-up of the fermentation was due to the release of CO₂. The results were submitted to the Tukey test (p<0.05), it was possible to observe that the Thermosacc yeast was more efficient in relation to converting sugars into ethanol, since the residual sugar was 10.75 g of A.R.T. (A), while the yeast Pedra-2 was 21.63 g of A.R.T (B). Regarding the alcohol content, Pedra-2 produced around 6.68 %v/v (B) of ethanol while Thermosacc produced 7.07 %v/v (A). Since Thermosacc is a yeast used in the process of producing ethanol from corn hydrolyzate and being adapted to the process

Financing: CAPES

Fungal cell disruption mechanical methods for L-asparaginase release from *Penicillium sizovae* isolated from Brazilian Savanna soil

Marcela de Freitas¹, Danilo Pinho², Edivaldo Ximenes Ferreira Filho², Adalberto Pessoa Junior³, João Inácio⁴, Perola Oliveira Magalhães¹

(1) University of Brasília, Department of Pharmacy, Health Sciences School, Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte, 70910-900, Brasília, Brazil

(2) University of Brasília, Institute of Biological Sciences, Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte, 70910-900, Brasília, Brazil

(3) University of São Paulo, Department of Biochemical and Pharmaceutical Technology, Avenida Prof. Lineu Prestes 580, Butantã, 05508-000, São Paulo, Brazil

(4) University of Brighton, School of Pharmacy and Biomolecular Sciences, Huxley Building, Lewes Road, BN2 4GJ, Brighton, United Kingdom

L-asparaginase, an enzyme used as treatment for acute lymphoblastic leukemia (ALL), is produced industrially by microorganisms. Methods aimed to enhance extraction of this enzyme from microorganism's cells can optimize downstream processing in industry. This work compared freeze-grind and sonication of fungal cells to evaluate which method releases more L-asparaginase from *Penicillium sizovae*, a L-asparaginase-producing filamentous fungus isolated from the Brazilian Savanna soil. After submerged cultivation in a modified Czapek Dox medium for 48 h, 32°C and 120 rpm, *P. sizovae* cells were harvested, washed with distilled water, weighed, and stored at -80°C. Enzyme extraction through maceration was carried out with frozen cells ground in a pre-chilled mortar and pestle in ice bath until a powder was obtained, suspended (0.5 g/mL) in 50 mM Tris-HCl buffer pH 8.6 and homogenized on a vortex for approximately 1 minute. Sonication was performed with thawed cells suspended in same buffer (0.5 g/mL) in a sonic dismembrator at 120 W, 20 kHz and 40 % amplitude in ice bath for 8 cycles of 59 seconds pulse on and then allowed to cool down for 30 seconds pulse off. The samples were centrifuged, and the supernatant was used as crude enzyme extract. Morphological changes of *P. sizovae* subjected to mechanical methods for fungal cell disruption were evaluated under scanning electron microscopy (SEM). Cells (100 mg) that had previously been macerated, sonicated and untreated, used as a control, were resuspended in fixative buffer (0.1 M sodium cacodylate with 5 % (w/v) glutaraldehyde, pH 7.2), followed by resuspension in sodium cacodylate buffer without glutaraldehyde. Samples were washed with autoclaved water, dehydrated through increased ethanol concentrations and air dried with hexamethyldisilazane. Samples were mounted on to a SEM sample stub with a carbon tape, coated with platinum and imaged with a Zeiss SIGMA field emission gun scanning electron microscope (FEG-SEM) using a Zeiss in-lens secondary electron detector. L-asparaginase activity and specific enzyme activity extracted by maceration (2.35 ± 0.03 U mL⁻¹; 0.80 U mg⁻¹) was 5-fold and 2-fold greater, respectively, than the values obtained by sonication (0.48 ± 0.02 U mL⁻¹; 0.36 U mg⁻¹), suggesting the freeze-grind method promoted fungal cell disruption thus releasing more L-asparaginase when compared to the sonication method. Changes in mycelium of *P. sizovae* subjected to mechanical methods for fungal cell disruption were observed under SEM and compared with a control sample. It was possible to visualize the terminal chlamydospores formed in the hyphae of the intact biomass used as control. Disrupted hyphae with release of the chlamydospores were visualized in the macerated sample. Disruption of hyphae and greater number of holes in mycelium were visualized in the sample submitted to sonication. This indicates that disruption is more efficient than the formation of holes in hyphae to release the cellular content. Therefore, it is possible to infer that the maceration method seems to have a deeper damaging effect to fungal cells compared to sonication, thus being the most efficient and optimized method for L-asparaginase release from *P. sizovae* as a potential source for ALL therapy.

Financing: Higher Education Personnel Improvement Coordination (Capes) – Finance Code 001 and the Federal District Research Support Foundation (FAP-DF) – process number 193.001.661/2017

Mejora de la acumulación de carbohidratos en una microalga nativa (*Chlorella* sp) mediante una metodología de superficie de respuesta (RSM)

William Suarez¹, Andres Fernando Solano Barajas², Ramón Ovidio García García Rico³

(1) UNIVERSIDAD DE PAMPLONA, MICROBIOLOGIA, CIENCIAS BASICAS, Sede Principal Pamplona Km 1 Vía Bucaramanga Ciudad Universitaria, Pamplona – Norte de Santander, Colombia

(2) UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER, Ciencias del medio ambiente, Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Avenida Gran Colombia No. 12E-96 Barrio Colsag,, San José de Cúcuta, Colombia

(3) UNIVERSIDAD DE PAMPLONA, MICROBIOLOGIA, FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS, Sede Principal Pamplona Km 1 Vía Bucaramanga Ciudad Universitaria, Pamplona – Norte de Santander, Colombia

Mejora de la acumulación de carbohidratos en una microalga nativa (*Chlorella* sp) mediante una metodología de superficie de respuesta (RSM) W. H. Suárez-Quintana 1, R. O. García-Rico1, A.F. Barajas-Solano21. Facultad de ciencias Básicas, Grupo GIMBIO, Universidad de Pamplona, Pamplona, 543050, Colombia2. Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad Francisco de Paula Santander, Av. Gran Colombia No. 12E-96, Cúcuta 540003, ColombiaLas microalgas son organismos fotosintéticos microscópicos que se encuentran tanto en el agua dulce como en el medio marino. Las microalgas son una excelente fuente de compuestos bioactivos como vitaminas, proteínas, polifenoles, ácidos grasos poliinsaturados o poliesteroles. La biomasa de microalgas se considera una materia prima propicia para la generación de bioenergía. Los factores ambientales y de cultivo notificados con más frecuencia, que afectan el contenido de carbohidratos, son la limitación y falta de nutrientes, el estrés por sal, la intensidad de la luz y la temperatura. Además, el modo metabólico (autótrofo, heterótrofo y mixotrófico) afecta la composición de la biomasa. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo maximizar la productividad de biomasa y carbohidratos mediante estrategias de optimización de uno y varios parámetros en una microalga de alta montaña del género *Chlorella* spp, aislada en el Páramo de Santurbán (Colombia), Laguna las Calles 3904 msnm, (7o17'11"N 72o52'02"W), mediante estrategias de optimización de uno y varios parámetros, los efectos interactivos de la composición del medio en la producción de carbohidratos se optimizaron utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM). Este estudio evalúa el efecto de diferentes fuentes de carbono (Na_2CO_3 , NaHCO_3 y $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) y su relación con algunos componentes del medio (NaNO_3 , KH_2PO_4 , K_2HPO_4), los demás componentes del medio (MgSO_4 , CaCl_2 , NaCl y solución de metales) se usan a concentración normal. La cepa se cultivó en medio Bold a 25° C con un ciclo de luz: oscuridad de 12:12, 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 20 días, el efecto de los nutrientes se evaluó mediante un Diseño Plackett-Burman seguido de optimización utilizando una metodología de superficie respuesta. Los resultados del diseño Plackett-Burman reveló un aumento significativo en la producción de Carbohidratos en la interacción con las fuentes de carbono (Na_2CO_3 - NaHCO_3) y KH_2PO_4 - K_2HPO_4 , los resultados de la optimización muestran que la interacción entre: NaHCO_3 , KH_2PO_4 y K_2HPO_4 aumentó considerablemente la concentración de carbohidratos con valores hasta un 60 (% p / p). Estos resultados demuestran que identificar y ajustar la concentración de nutrientes críticos puede aumentar la concentración de carbohidratos en microalgas nativas del género *Chlorella*.

Financing: Universidad de Pamplona, GRUPO GIMBIO, Universidad Francisco de Paula Santander Departamento de Ciencias Ambientales

Evaluación de diferentes fuentes de nitrógeno sobre parámetros de crecimiento y fermentación de distintas levaduras para la obtención de bioetanol a partir de mosto de uva.

María Cecilia Rojo^{1,2}, Magalí González¹, Valeria Chimento¹, María Lorena Ponsone^{1,2}, María Cecilia Lerena^{1,2}, Ivan Ciklic¹, Francisco Gómez³, Virginia Martín Arranz³, Laura Analía Mercado¹, Francisco Noé Arroyo-López³, Mariana Combina^{1,2}

(1) INTA EEA Mendoza, Laboratorio de Microbiología Enológica, San Martín 3853 Lujan de Cuyo, Mendoza, Argentina

(2) CONICET, CCT Mendoza, Av. Ruiz Leal s/n - Parque Gral. San Martín, M5500, Mendoza, Argentina

(3) CSIC, Instituto de la Grasa, Universidad Pablo de Olavide Sevilla, Pablo de Olavide, 41006, Sevilla, España

En Argentina, la actividad vitivinícola representa un importante componente en las economías productivas de las provincias de Mendoza y San Juan. Esta región se ve afectada cíclicamente por una saturación del mercado de vinos, generada por la existencia de un alto volumen de uvas de bajo valor enológico, que representa un 50 % en ambas provincias, generando 1.000.000 tn de uva al año. La obtención de bioetanol de primera generación podría aportar a la diversificación productiva y el agregado de valor de los jugos de uva excedentes. El objetivo del presente trabajo fue encontrar las condiciones óptimas de nutrición que permitan el mejor crecimiento (biomasa "A" y μ_{max}) con una máxima producción de etanol (rendimiento Yp/s y porcentaje de azúcares consumidos) para levaduras autóctonas seleccionadas para la obtención de bioetanol 1G a partir de mosto de uva. Se utilizaron tres cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (M, G y C) aisladas de final de fermentación, una cepa autóctona de *Zygosaccharomyces rouxii* aislada de mostos concentrados (Z) y una cepa comercial de *S.cerevisiae* (EC1118). El diseño experimental incluyó: 3 fuentes de nitrógeno (simple: di-amino fostato (DAP), complejo: extracto de levadura (EL), combinado: nutriente comercial Fermaid-Lallemand) en 4 concentraciones (150, 300, 450 y 600 mg/L). Debido a que la urea es una fuente nitrogenada de bajo costo pero no es utilizada por todas las levaduras, se incluyó un ensayo exploratorio de urea en forma combinada con nitrógeno simple (DAP 150 mg/L + urea 600mg/L). Se utilizó el medio YCB modificado con 300 g/L de azúcares (1:1 glucosa:fructosa). El ensayo se realizó a 28°C durante 15 días en placas de microtitulación utilizando un espectrofotómetro automático (Bioscreen C, LabSystem) para parámetros de crecimiento y en tubos con 15 mL para evaluación de etanol y azúcares residuales mediante HPLC. Las condiciones óptimas de nutrición para cada levadura fueron validadas en mostos de uva enriquecido (mosto de uva con 390 g/L azúcares) donde se incluyeron además otras concentraciones de urea. Los resultados mostraron un efecto significativo del tipo de fuente nitrogenada sobre los parámetros de crecimiento y fermentativos. En general, la velocidad máxima fue mayor con el nutriente simple (DAP) y menor con el nutriente combinado (Fermaid), mientras que en presencia de los nutrientes complejos (EL y FERM) el rendimiento etanólico fue más elevado. Se observaron diferencias estadísticas en parámetros de crecimiento entre las cepas, los nutrientes y las diferentes concentraciones, como así también en el rendimiento etanólico. El análisis combinado permitió encontrar las mejores cepas y las condiciones mínimas de nutrición que producen máximos parámetros de crecimiento y fermentación. Los resultados mostraron que las cepas con mayor velocidad de fermentación no fueron las mismas que mostraron los mejores rendimientos. La cepa Z fue descartada por su lento metabolismo. El ensayo de validación permitió seleccionar a las cepas C y M como las más eficientes con la adición del nutriente complejo EL y la urea.

Financing: El trabajo fue financiado por Proyecto Especifico INTA (2021-PE-E7-I149): Agregado de valor en la producción agropecuaria/agroalimentaria a través de la mejora, identidad y/o transformación de producto y oportunidad de su comercialización

Bioprospección de microorganismos antárticos productores de lipasas y esterases activas a bajas temperaturas.

Magela Teliz¹, Mairan Guigou¹, Ma Eugenia Vila¹, Laura Camesasca¹

(1) Universidad de la Republica (UdelaR), Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería, Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo, Uruguay

Los microorganismos conocidos como psicrófilos o psicrotolerantes, son potenciales productores de enzimas que llevan a cabo procesos catalíticos en condiciones de baja energía cinética. Las lipasas y esterases son enzimas ampliamente usadas en la industria que catalizan la hidrólisis de ésteres como los triglicéridos a glicerol y ácidos grasos. Aquellas adaptadas a realizar dicha función a bajas temperaturas con alta especificidad suponen una herramienta biotecnológica con una demanda creciente. En este contexto, el ecosistema microbiano antártico es una fuente ideal de estas enzimas como recursos biotecnológicos enfocados al uso en condiciones de bajas temperaturas. Este trabajo plantea desarrollar la búsqueda y selección de microorganismos psicrófilos y/o psicrotolerantes productores de lipasas y esterases con alta eficiencia catalítica a bajas temperaturas a partir de aislamientos bacterianos obtenidos de muestras de suelo provenientes de la Isla Rey Jorge, Antártida. Se partió de un grupo de 89 aislamientos bacterianos los cuales fueron caracterizados morfológicamente mediante técnicas clásicas de tinción y observación al microscopio de las células, así como también mediante observación de las características de las colonias en lupa. Posteriormente se llevó a cabo el cribado de los diferentes aislamientos mediante la utilización de una técnica de fingerprinting (TP RAPD PCR), seguido de una evaluación de la presencia de actividades lipolítica y/o esterasa en medios sólidos con tributirina o tween 80. La detección de actividad enzimática extracelular se basa en la formación de un halo o precipitado alrededor de las colonias a causa de la difusión de proteínas que hidrolizan el sustrato. Una vez seleccionadas las cepas con mayor relación de diámetro de halo generado en relación al tamaño total de la colonia, se llevó a cabo la caracterización primaria sobre extractos crudos de proteínas de la actividad enzimática, mediante un diseño estadístico (Diseño Compuesto Central) de los ensayos que abarcó el estudio en un rango de pH de 5-9 y 10-40 °C de temperatura. La actividad enzimática fue determinada a partir del seguimiento de absorbancia del p-nitrofenol liberado a partir de hidrólisis de p-nitrofenil palmitato y p-nitrofenil butirato como sustratos para actividad lipolítica y esterasa respectivamente a 410 nm. A partir de 86 cultivos iniciales pudieron obtenerse 69 cepas de trabajo. De estas últimas, 29 cultivos presentaron actividad esterasa a 4°C y 20 °C, 11 aislamientos presentaron actividad lipolítica extracelular a 4°C y 24 aislamientos a 20 °C. Las cuatro cepas que presentaron mayor actividad enzimática fueron identificadas a nivel de género. Dos cepas de *Psychrobacter* sp. exhibieron actividad lipolítica, con alta eficiencia catalítica en un rango de pH de 5 a 6 sin efectos significativos en la variación de temperatura. Dos aislamientos de *Aeromonas* sp. y *Psychrobacter* sp. presentaron las mayores actividades esterasa, resultando los mejores valores para la eficiencia catalítica de estas enzimas en un rango de pH de 5 a 6 sin efectos significativos en la variación de temperatura. Como futuras estrategias de investigación se plantea optimizar el medio de cultivo para producción de enzimas lipasas y esterases extracelulares, así como aislar y caracterizar las enzimas obtenidas.

Evaluation of the lipolytic potential of the *Aspergillus japonicus* using different substrates

Daniela Remonato¹, Bárbara R. Ferrari¹, Juliana C. Bassan¹, Grazielle Santos Silva Andrade², **Ana Karine Furtado de Carvalho**^{3,4}, Valéria de C. S. Ebinuma¹, Ariela Veloso de Paula¹

(1) São Paulo State University, Bioprocesses and Biotechnology Department, Pharmaceutical Sciences, Araraquara – SP, Brazil

(2) Federal University of Alfenas (UNIFAL), Science and Technology Institute, Science and Technology, Poços de Caldas -MG, Brazil

(3) Federal University of Alfenas (UNIFAL), Chemical Institute, Biotechnology, Alfenas-MG, Brazil

(4) Engineering School of Lorena, University of São Paulo, Chemical Engineering, Chemical Engineering, Lorena-SP, Brazil

Lipases (E.C. 3.1.1.3) are enzymes classified as hydrolases and catalyze several reactions, from the hydrolysis of triacylglycerols to the synthetic of esters. Microbial lipases are of great commercial interest, due to their ease of production and versatility in processes application. Specifically, the specific lipases from *Aspergillus* genus are important in biotechnological applications. However, the lipolytic capacity of some species of this fungus, such as *Aspergillus japonicus*, is still poorly studied. In this context, the objective of this work was to produce lipases for submerged cultivation of *Aspergillus japonicus* DPUA1727 employing different substrates: olive oil and soybean oil. Cultures of *A. japonicus* were inoculated in Petri dishes with sterile PDA medium and incubated at 30 °C for 7 days. From the colonies present in the Petri dishes, 20 mycelium discs (8 mm in diameter) were collected. The discs were inoculated in Erlenmeyers flasks (500mL) containing 100 mL of sterile culture medium composed of: bacteriological peptone 40 g / l, olive oil or soybean oil 1.6 g / l, magnesium sulfate heptahydrate 1.2 g /me; potassium monoacid phosphate 2 g / l and ammonium nitrate 2 g / l. The submerged culture was incubated on an orbital shaker for 72 h at 30 °C and 150 rpm. The experiments were carried out in triplicate and the initial pH of the medium was valid for 7.0. At the end of cultivation, the enzyme was extracted by filtering the fermented broth to separate the biomass. The enzymatic extract was evaluated for hydrolytic activity and total protein content by the Bradford method. The results showed that the submerged fermentation of *A. japonicus* using olive oil had a final pH of 3.4; using soybean oil, the pH was 3.6, evidencing the greater production of fatty acids using olive oil. Regarding biomass, the test with olive oil showed 6.56 g/l, whereas with soybean oil it was higher than 8.01 g/l. The enzymatic extract obtained with olive oil had a protein concentration of 12.8 µg/ml and a hydrolytic activity of 44.8 U/ml. The enzymatic extract obtained from fermentation using soybean oil had a protein concentration of 11.8 µg/ml and a hydrolytic activity of 35.9 U/ml. Olive oil, as a substrate, provided the production of an enzyme with activity 23% higher than that obtained with soybean oil; in addition, the enzymatic extract had a higher protein content, that is, a higher amount of enzyme, being selected as the standard inducer for the enzyme production. The high hydrolytic activity of the lipases present in the extracts demonstrate the high lipolytic potential of the fungus *A. japonicus*. Thus, this work contributed to the acquisition of important information about lipase from *A. japonicus*, an enzyme that has been little described in the literature and that has potential application in a range of industrial sectors.

Evaluación del potencial electrogénico de comunidades microbianas nativas de la agroindustria del café para el tratamiento de aguas residuales y la co-generación de electricidad mediante el uso de sistemas bioelectroquímicos (BES).

Santiago Erazo Cabrera¹, Lina María Agudelo Escobar¹, Claudio Avignone-Rossa²

(1) Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología, Medellín, Colombia

(2) Universidad de Surrey, Escuela de Biociencia y Medicina, Surrey, Reino Unido

Colombia se conoce como un país que fundamenta gran parte de su economía en la agricultura, asimismo, el cultivo de café se destaca por su calidad y amplio reconocimiento a nivel mundial. La producción de café en Colombia fue de 14,8 millones de sacos de 60 kg en 2019 y 13,9 millones de sacos en 2020 según la Federación Nacional de Cafeteros, en el departamento de Antioquia, se estima que se produce el 15 % de la cosecha nacional. No obstante, la generación de residuos líquidos agroindustriales derivados de la cosecha del café se calcula entre 40-50 L por cada kg de café pergamino seco. La disposición de estos residuos a fuentes hídricas naturales conlleva a el aumento de materia orgánica y derivados agroindustriales como pesticidas y fertilizantes, causantes de contaminación ambiental y problemas en la salud pública. Una alternativa al tratamiento convencional de aguas residuales son los sistemas bioelectroquímicos (BES). Los BES se han diseñado como estrategias de remediación o sistemas de tratamiento secundario de aguas residuales que a su vez aprovechan metabolitos y energía derivada del metabolismo microbiano. Las Celdas de Combustible Microbiales (MFC, por sus siglas en inglés) contemplan una clasificación de sistemas bioelectroquímicos aplicados al tratamiento de aguas residuales con el beneficio de cogenerar energía eléctrica. El objetivo de este estudio consiste en evaluar el potencial electrogénico de las comunidades microbianas nativas en agua residual del beneficio del café en la zona cafetera del suroeste Antioqueño, Colombia. Para la caracterización de los microorganismos se utilizaron técnicas de identificación basadas en biología molecular (secuenciación RNA 16S) y análisis estadísticos multivariados (NMDS y PCA) que permiten describir la abundancia y diversidad de las comunidades nativas en las aguas residuales objeto de estudio, y, determinar una correlación de los microorganismos con los parámetros operaciones de las MFC evaluadas. Las Celdas de Combustible Microbiales se inocularon con diferentes muestras de agua residual del beneficio del café y operaron en periodos continuos de 30 días. Se registraron voltajes entre 335,0-400,5 mV en celdas operando en circuito abierto. Complementariamente, la degradación de materia orgánica en las MFC evaluadas se determinó en rangos entre 50-70%. Finalmente, se concluye que las comunidades microbianas nativas del agua residual del beneficio de café en Antioquia poseen una capacidad electrogénica prometedora para su aplicación en campo como estrategia de remediación de aguas residuales agroindustriales y cogeneración de electricidad. Como perspectiva, se propone evaluar métodos de estimulación de la actividad electrogénica y selección de microorganismos electrogénicos en esta matriz natural.

Financing: Newton Fund

Uso de lipasas libres e inmovilizadas para la hidrólisis y síntesis del bioplástico PLA

Carlos Murguiondo¹, Leonor Rodríguez-Sánchez¹, Eva Calviño¹, Francisco Javier Cañada¹, María Jesús Martínez¹, Alicia Prieto¹

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Ramiro de Maeztu, 9, Madrid, España

En 2019, la producción global de plásticos convencionales de origen petroquímico alcanzó las 368 millones de toneladas. La creciente preocupación de los científicos y la sociedad por el carácter no renovable de los plásticos de origen fósil y su impacto medioambiental han impulsado la búsqueda de nuevos materiales biobasados y/o biodegradables, comúnmente conocidos como bioplásticos. Entre ellos, los poliésteres alifáticos, y en especial el ácido poliláctico (PLA), son candidatos prometedores debido a su biocompatibilidad, termoplaticidad, y biodegradabilidad en condiciones controladas. Hoy en día el PLA se utiliza en varios sectores, tales como la industria textil, la medicina, la industria del embalaje, como material para impresión 3D y para la fabricación de acolchados para usos agrícolas. El PLA se sintetiza mediante dos rutas principales: la policondensación directa del ácido láctico (LA) o la polimerización por apertura del anillo (ROP) de lactida, el dímero cíclico del LA. Ambos procesos pueden emplear catalizadores químicos o enzimas, aunque la biocatálisis tiene como ventajas añadidas su alta enantio- y regioselectividad y su desarrollo en condiciones de reacción más suaves. Por otra parte, puesto que se puede producir LA a partir de fuentes renovables mediante la fermentación de monosacáridos, es importante mejorar la biodegradabilidad del PLA para completar un ciclo de vida circular. La despolimerización del PLA en su monómero o dímero es un paso crucial para el reciclado y la regeneración del poliéster e importante para limitar el impacto medioambiental del polímero. Entre las enzimas que catalizan la degradación y síntesis de poliésteres predominan las lipasas. Es probable que la misma enzima que cataliza la despolimerización del PLA en soluciones acuosas, también polimerice lactida a PLA en solventes orgánicos, aunque no necesariamente con la misma eficiencia. Ambas reacciones son difíciles, ya que las condiciones de acidez, el uso de solventes orgánicos y las altas temperaturas pueden afectar a la actividad de las proteínas, pero la estabilidad de estas enzimas puede mejorar tras su inmovilización, posibilitando además su reutilización en sucesivos ciclos de reacción. En este trabajo, se han inmovilizado como mCLEAs (magnetic Cross-Linked Enzyme Aggregates) varias lipasas comerciales: la de *Candida rugosa*, Eversa (lipasa de *Thermomyces lanuginosus* modificada genéticamente por Novozymes), y la lipasa A de *Candida antarctica*, ensayando su actividad en hidrólisis (50 °C, 72 h) y síntesis (90 °C, 24 h) y comparándolas con las de su forma soluble. La cantidad de LA liberado en la hidrólisis se midió por GC/MS, y la polimerización de la lactida se siguió por MALDI-TOF. La actividad específica de las enzimas inmovilizadas osciló entre 140 y 190 mU/mg soporte. En mayor o menor medida, todos los biocatalizadores probados catalizan ambos tipos de reacciones, y cabe destacar que los resultados preliminares obtenidos con las enzimas inmovilizadas parecen superar los de sus homólogas libres y que la actividad de las mCLEAs en hidrólisis se mantiene durante al menos 6 días. Estos datos indican que las lipasas mejoran su actividad y estabilidad en estas reacciones tras su inmovilización como mCLEAs.

Financing: Los autores agradecen su apoyo a la plataforma SusPlast y la financiación recibida a: Programa RETOPROSOST-2-CM, P2018/EMT-4459 (Comunidad de Madrid) Proyecto BioSFerA H2020-LC-SC3-2019-NZERES-CC-884409 (EU) Proyecto GLYSUS RTI2018-093683-B-I00 (MICIU/AEI/FEDER)

Evaluación del efecto de nutrientes y la concentración de oxígeno disuelto en la producción de carotenoides de *Cryseobacterium* sp. a nivel de matraces

Veronica Saravia¹, Santiago Pena¹, Eugenia Vila¹

(1) Universidad de la República, Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería, Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo, Uruguay

Actualmente los carotenoides se utilizan como colorantes alimentarios naturales, se encuentran en complementos nutricionales, productos farmacéuticos y cosméticos, debido a su capacidad antioxidante y evidencias de beneficios en la salud. Una gran parte de los carotenoides son producidos por síntesis química, lo que ha llevado a la búsqueda de nuevas alternativas para su obtención a partir de fuentes naturales, entre las que se encuentra la obtención a través de microorganismos. En el presente trabajo se estudió la producción de carotenoides de una cepa de *Cryseobacterium* sp. P14 aislada de muestras obtenidas de la Península de Fildes, Antártida. Los carotenoides producidos por la cepa son zeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno. Se estudió el efecto de tres componentes del medio de cultivo (glucosa, peptonas y extracto de levadura) mediante un diseño factorial a tres niveles (glucosa: 2,5; 5; 7,5 g/L; peptonas: 10; 20; 30 g/L; extracto de levadura: 1; 8; 15 g/L). Se monitoreó el % de oxígeno disuelto de 4 matraces, y determinó luego de 48 h el crecimiento bacteriano, contenido (mg/g) y concentración (mg/L) de carotenoides totales. Los cultivos se realizaron en matraces de 1L con 100mL de medio, se incubaron en agitadores orbitales a 200 rpm y a 20°C por 70h. El oxígeno se monitoreó mediante sensores ópticos. La biomasa se estimó mediante turbidimetría medida a 600nm. Los carotenoides se extrajeron con metanol de la biomasa liofilizada y se midió la absorbancia a 450 nm. Tanto la peptona como extracto de levadura presentaron un efecto positivo en el crecimiento, y el efecto de la glucosa no fue significativo. El mayor valor de biomasa se obtuvo en los niveles más altos de nutrientes, alcanzándose 9,3 g/L a las 70h. En lo que respecta al contenido de carotenoides totales, tanto la peptona como el extracto de levadura tuvieron un efecto negativo. Sin embargo, del análisis de los resultados de concentración de carotenoides se obtuvo que el único factor significativo fue el extracto de levadura, con un efecto positivo. El matraz con mayor contenido y concentración de carotenoides totales alcanzó 1,6 mg/g y 11,6 mg/L. Las medidas de O₂ disuelto mostraron que en los 4 matraces monitoreados se llegó a una concentración de 0%, por lo que tanto el crecimiento como la producción de carotenoides pueden estar limitado por oxígeno. En el matraz con niveles altos de glucosa, peptonas y extracto de levadura, el % O₂ disuelto se mantuvo próximo a 0% entre aprox. 23 y 56 h de cultivo. En los otros matraces con niveles más bajos de nutrientes, el período de tiempo con % O₂ próximos a 0, fue menor. Dado el carácter aerobio de *Cryseobacterium* sp. y el requerimiento de oxígeno para la síntesis de los carotenoides producidos, se evidencia la importancia de considerar la limitación de O₂ en los estudios a nivel de matraces.

Financing: Programa I+D 2018, CSIC, Uruguay.

Microbial lipid production from starchy sources: Use food industry waste as substrate for fungal biorefinery

Heitor Buzetti Simões Bento¹, Tales A. Costa-Silva², Jonathan A. Batista Conceição³, Lais Agostinho Milani⁵, Gabriel C. Koenigkam de Oliveira⁵, Rhyan L. Nubile Gonçalves³, Bruno C. Gambarato⁴, **Ana Karine Furtado de Carvalho**^{3,5}

(1) São Paulo State University, Bioprocess Engineering and Biotechnology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Araraquara-SP, Brazil

(2) University of São Paulo, Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, São Paulo-SP, Brazil

(3) Federal University of Alfenas, Institute of Chemistry, Biotechnology, Alfenas-MG, Brazil

(4) University Center of Volta Redonda, Material Science, Material Science, Volta Redonda-RJ, Brazil

(5) University of São Paulo, Chemical Engineering, Engineering School of Lorena, Lorena-SP, Brazil

In Brazil, the food industry is among the ones that produces high amounts of residues in its production. Many technologies have been developed with the purpose of treating these wastes. The waste that would turn into garbage can become substrate to cultivate filamentous fungi and obtain a wide variety of bioproducts, as oil-rich extracts and bioactive compounds with application in the pharmaceutical, cosmetics, food and biofuel industries. In the potato processing, for example, two main types of waste are generated: washing water and peels. Potato water is rich in starch, considered a good carbon source for the cultivation of microorganisms due to its composition of glucose units. The oleaginous fungus strain *Mucor circinelloides* URM 4182 is known to grow well in soluble starch, thus, the objective of this study was the production of oleaginous microbial biomass from starch-rich effluents from the potato processing industry, in order to provide the valorization of this waste through a biorefinery model in accordance with the concept of circular bioeconomy. Wastewater of potatoes were analyzed for sugar content (30 g L⁻¹ of sugars) and ion composition. In the analyzed samples, sodium, potassium and calcium cations were found, as well as chloride, phosphate, fluoride, nitrate, nitrite and sulfate anions. Potatoes wastewater was used as culture media (30 g/L of sugars) for fungal lipids production. Cultivations were carried out aerobically in bioreactor at 26 °C, 250 rpm for 120 h. The starch source used was assimilated by the fungus *M. circinelloides* URM 4182 providing lipid production of 3.2 g L⁻¹ corresponding to 18 wt.% lipids in the dry biomass. The composition of the extracted oil presented mainly palmitic (21.7%) and oleic acids (23.9%) as well as polyunsaturated acids (26.2 wt.%) as linoleic and linolenic acid.

Financing: 2020/15513-7

Estudio in vitro de las propiedades antimicrobianas de nanopartículas de óxido de calcio dopadas con plata.

Haydeé López-De la Peña¹, María Hernández-González¹, Francisco Hernández-Centeno¹, Claudia López-Badillo², Brenda Cruz-Ortiz², Vladimir Cervantes-Reyes¹

(1) Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Ciencia y Tecnología de Alimentos, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

(2) Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencia Químicas, Ing. J. Cárdenas Valdez S/N, Saltillo, Coahuila, México

Las nanopartículas de óxido de calcio han recibido una considerable atención por sus inusuales propiedades y sus potenciales aplicaciones en diversos campos, se ha demostrado que tiene buenas propiedades antimicrobianas; adicionalmente de tener buena histocompatibilidad y la capacidad de inactivar la endotoxina microbiana. Las nanopartículas de plata presentan excelentes propiedades antimicrobianas; pero se tiene la desventaja de su potencial toxicidad, las respuestas inflamatorias y oxidativas al estar en contacto con ellas, por lo cual su uso ha sido severamente cuestionado. El trabajo de investigación consistió en sintetizar nanopartículas de CaO dopadas con Ag por el método sol-gel con el objetivo de incrementar sus propiedades antimicrobianas. Las nanopartículas de óxido de calcio dopadas con plata fueron sintetizadas por el método sol-gel con ácido cítrico. Se obtuvieron nanopartículas de óxido de calcio con diferentes porcentajes de dopaje con plata (0, 0.1, 0.5 y 2 %). La actividad antimicrobiana de las nanopartículas de óxido de calcio dopadas con plata se midió mediante el método de cinética de crecimiento de microorganismos. Los agentes patógenos que se utilizaron para la prueba fueron *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Se inoculó el medio de cultivo (Tubo 4 de McFarland) con el organismo de ensayo con diferentes cantidades de muestra de nanopartículas (3, 6 y 9 mg) por triplicado. Los datos fueron graficados y analizados estadísticamente mediante un diseño factorial completo y un análisis de medias t-student ($p \leq 0.5$) en el programa estadístico JMP 5.0.1a. De las cinéticas de crecimiento microbiano fue posible apreciar que las curvas de crecimiento para ambos microorganismos muestran las cuatro fases de crecimiento características (latencia, crecimiento exponencial, estacionaria y de muerte). Eficiencia antimicrobiana ante *Staphylococcus aureus*: la que tiene la mayor reducción en la lectura de absorbancia es la de 9 mg, con un porcentaje de dopaje de 1% plata con una reducción del orden 4.5 veces. Otro dato relevante fue que la muestra de 9 mg con un porcentaje de dopaje de plata del 0.5% retrasó la fase de latencia hasta aproximadamente las 8 h. Eficiencia antimicrobiana ante *Escherichia coli*: La muestra dopada de 9 mg con 0.1% plata tiene una reducción en la lectura de absorbancia del orden de 26 veces con respecto al control, siendo esta reducción la mayor para todas las muestras dopadas. Las muestras que retrasan la fase de latencia son las correspondientes a las de 9 mg con 0.1% de plata, extendiendo la fase latencia hasta las 4 horas y la de 6 mg con 0.5% de plata extendiéndola hasta las 3 horas. Es posible concluir que las muestras de óxido de calcio dopadas con plata presentan actividad antimicrobiana, tanto para *S. aureus* como para *E. coli*. Dicha actividad se presenta de manera bacteriostática, cuando la fase de latencia se alarga con respecto al control. Así como actividad bactericida, es decir cuando se logra eliminar cierto número de microorganismos, traducidos en reducciones de ciclos logaritmos, este efecto se presentó en las dos bacterias estudiadas, aunque con mayor efecto para *E. coli* donde se obtuvieron las mayores reducciones.

Producción de lípidos y biomasa mediante el cultivo mixto de *Yarrowia lipolytica* y *Chlorella vulgaris* utilizando vinaza como sustrato

María Laura Rojas Aguadé^{1,2}, Elvio Gayozo³, Walter Javier Sandoval-Espínola⁴

(1) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología Industrial, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Biotecnología Industrial, San Lorenzo, Paraguay

(3) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo, Paraguay

(4) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Biotecnología Microbiana, San Lorenzo, Paraguay

En las últimas décadas, debido al aumento de la demanda de combustibles fósiles, el agotamiento de estas, y el incremento en las emisiones de gases de efecto invernadero, se ha generado una problemática global que desencadenó el desarrollo de alternativas energéticas como los biocombustibles, entre ellos, los de tercera generación, que permiten obtener energía sin competir con los cultivos alimentarios en cuanto a suelo ni con la utilización de estos como alimentos, y son capaces de reducir la emisión de gases de efecto invernadero. Entre estos biocombustibles se encuentra el biodiesel proveniente de microorganismos oleaginosos. Recientes estudios señalan beneficios de los cultivos mixtos de microalgas y levaduras para obtener compuestos de interés industrial como el biodiesel. A fin de evaluar la producción de biomasa y lípidos para obtención de biodiesel, se estudió el crecimiento de *Yarrowia lipolytica* y *Chlorella vulgaris* utilizando vinaza de caña dulce como sustrato. Para ello se evaluaron tres proporciones de vinaza en agua (75, 50 y 25% v/v) como sustrato y cuatro proporciones de inóculo inicial de *Y. lipolytica* y *C. vulgaris*, dos monocultivos y dos mixtos (98% y 95% de *Y. lipolytica* en porcentaje de células totales del inóculo). Se cultivaron en reactores aireados a 3 L.min⁻¹, pH 6,7, temperatura de 25 °C durante 240 horas, se realizaron curvas de crecimiento celular mediante recuento de células en microscopio, y de biomasa mediante peso seco. Los lípidos fueron extraídos de la biomasa seca mediante el método de Bligh y Dyer. Se determinó la productividad de biomasa y lípidos y el porcentaje de lípidos en base a biomasa seca. Posteriormente, se transesterificaron los lípidos de tres condiciones obteniéndose 65% de rendimiento. Las mejores condiciones fueron un cultivo puro de *Y. lipolytica* con 50% de vinaza que alcanzó 20,92±12,39% de lípidos, productividad de biomasa de 54,58±4,49 mg.L⁻¹.d⁻¹ y productividad de lípidos de 11,42±6,77 mg.L⁻¹.d⁻¹; y un cultivo mixto con inóculo inicial de 98% *Y. lipolytica*, 25% de vinaza con 7,25±1,80 mg.L⁻¹.d⁻¹ de productividad de lípidos, productividad de biomasa de 102,67±32,07 mg.L⁻¹.d⁻¹ y porcentaje de lípidos de 7,06±1,76%. Aunque se observó en algunas ocasiones el efecto favorable del cultivo mixto entre estas especies, el monocultivo *Y. lipolytica* obtuvo mejores resultados en las variables evaluadas. No se observó el efecto de las diferentes proporciones de vinaza, sin embargo, se logró cultivar cepas oleaginosas en un efluente diluido en agua sin agregado de fuente de carbono.

Financing: Financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Programa Paraguay para el Desarrollo de la Ciencia y Tecnología (PROCIENCIA), a través del Fondo para la Excelencia de la Educación y la Investigación (FEEL).

Intestinal Transcriptome and Gut Microbiome characterization as response of soybean-based diet in zebrafish

Nicole Diaz¹, Luis Valenzuela², Ricardo Leal⁴, Natalia Lam⁵, Cristian Araneda⁵, Patricio Dantagnan⁶, Adrián Hernández⁶, Alex Cabrera⁷, Pilar E. Ulloa⁸, Soledad Guitierrez³, Paola Navarrete³

(1) Universidad San Sebastian, Facultad de Medicina y Ciencia, Santiago 8320164, Santiago, Chile

(2) Omics Lab, Villavicencio 378, Oficina 32, Santiago 8320164, Chile.

(3) Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.

(4) Escuela de Agronomía, Universidad de Las Américas, Providencia, Santiago, Chile.

(5) Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, La Pintana, Chile.

(6) Laboratorio de Nutrición y Fisiología de Peces, Núcleo de Investigación en Producción Alimentaria, Departamento de Ciencias Agropecuarias y Acuícolas, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Chile.

(7) Departamento de Agroindustria y Enología, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

(8) Núcleo de Investigación Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Universidad de Las Américas, Santiago, Chile

Different investigations in cultured fish and zebrafish have shown that soybean meal (SBM) and its principal allergen saponin inducing intestinal inflammation affecting growth. The relationship that exists between the host's transcriptome and its intestinal microbiota remain unclear. Identify the confluence of both mechanisms would be beneficial to understand the effects on the development and regulation of immune systems to improve to host defense to favor growth. The main goal of this study was to establish the relationships between biological processes, at the intestinal transcriptome level, and changes in the microbiota in adult zebrafish, after been feed to a diet based on soybean meal supplemented with saponin (50SBM+2SPN) respect to control diet (100FM). Two fish replicates population of zebrafish were fed 50SBM+2SPN or 100 FM diet, from juvenile (40 days post fertilization) to adult stages (98 days post fertilization). To understand the relationships effect of the SBM diet on gene expression, and change in microbiota, individuals were selected from these representatives of the mean weight in both populations. Six fish fed 50SBM + 2SPN and six fish fed 100FM were selected. Total RNA was extracted from intestinal samples for RNA-seq assays and from intestinal digesta samples, bacterial DNA was extracted for 16S rRNA gene amplicon sequencing. Our results show increased biological processes related to "defense response to Gram-negative bacteria", "development of type B pancreatic cells". The microbiota analysis showed a higher prevalence of the genus *Tabrizicola* in fish fed both diets. In fish fed 50SBM + 2SPN the prevalence of the genus *Phreatobacter* decreases and the genus *Hyphomicrobium* increases. Finally, the differential abundance analyzes yielded five genera (*Bifidobacterium*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Fusicatenibacter* and *Cutibacterium*) with greater abundance in fish fed 50SBM+2SPN, and three genera (*Fenollaria*, *Candidatus_Saccharimonas* and *Limibacillus*) with decreased differential abundance. Our results evidence that soybean-based diet cause changes in bacterial abundance, suggesting the ability to certain species to survive the change in nutrients and the metabolites released by the host in a defense response to intestinal inflammatory, as shown by transcriptomic analysis.

Financing: proyecto FONDECYT 11170847

Biorremediación de aguas contaminadas por antibióticos mediante el uso de una lacasa termófila recombinante.

Jorge Sánchez - San Martín^{1,2}, Giannina Espina¹, Jenny M. Blamey^{1,3}

(1) Fundación Biociencia, José Domingo Cañas 2280, Ñuñoa, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Independencia, Santiago, Chile

(3) Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Estación Central, Santiago, Chile

Las lacasas son enzimas multicobre oxidasas que se caracterizan por tener un amplio rango de sustratos fenólicos y no fenólicos, que en su catálisis utilizan oxígeno como cosustrato, generando agua como único producto¹. Debido a esto presentan características interesantes para la biotecnología, particularmente en biorremediación. Estas enzimas están ampliamente distribuidas en la naturaleza, encontrándose incluso en microorganismos extremófilos, siendo las de origen mesófilo (hongos y bacterias) las más estudiadas hasta la fecha. A nivel mundial, se utilizan 200.000 toneladas de antibióticos anualmente en consumo humano y veterinario. Este uso indiscriminado de antibióticos ha llevado a una mayor presencia de estos en el ambiente, generando así un impacto perjudicial en el ecosistema, aumentando las probabilidades de generar bacterias resistentes a antibióticos. Actualmente, se han identificado distintos tipos de antibióticos en ríos de todo el mundo, detectándose incluso la presencia de quinolonas y macrólidos en aguas del mar Antártico². En Fundación Biociencia se ha aislado y generado de manera heteróloga una nueva lacasa proveniente de un microorganismo termoalcalifílico, que posee una gran actividad utilizando siringaldazina como sustrato (>450.000 U/mg) a 70°C y pH 6.03. En el presente trabajo se evaluará la capacidad de esta nueva lacasa recombinante en la biodegradación de 3 familias de antibióticos: β -lactámicos, tetraciclinas y quinolonas. Se propone evaluar mediante HPLC el porcentaje de degradación logrado en presencia y ausencia de mediadores químicos, ensayando la capacidad degradadora de esta enzima a distintas temperaturas y pH. Además, se evaluará la disminución de la ecotoxicidad de los antibióticos luego de ser oxidados por la enzima. Resultados iniciales indican que esta lacasa es capaz de degradar ampicilina, tetraciclina y oxitetraciclina en concentraciones de 0,5 mg/mL en presencia de acetosiringona y ABTS a partir de 30 minutos de exposición a ellos. Esta nueva lacasa presenta un interesante potencial biotecnológico basado en su alta actividad y en su capacidad degradativa de diferentes familias de antibióticos. Referencias: 1.- Guan, Z. B., Luo, Q., Wang, H. R., Chen, Y., & Liao, X. R. (2018). Bacterial laccases: promising biological green tools for industrial applications. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(19), 3569-3592. 2.- Hernández, F., Calisto-Ulloa, N., Gómez-Fuentes, C., Gómez, M., Ferrer, J., González-Rocha, G., ... & Montory, M. (2019). Occurrence of antibiotics and bacterial resistance in wastewater and sea water from the Antarctic. *Journal of hazardous materials*, 363, 447-456. 3.- Espina, G., Cáceres-Moreno, P., Mejías-Navarrete, G., Ji, M., Sun, J., & Blamey, J. M. (2021). A novel and highly active recombinant spore-coat bacterial laccase, able to rapidly biodecolorize azo, triarylmethane and anthraquinonic dyestuffs. *International journal of biological macromolecules*, 170, 298-306.

Financing: Agradecimientos: CONICYT PCI NSFC190024, NSFC31270122, CORFO INNOVA N°15IPPID-45682.

Solid-state fermentation for low-cost biosurfactant production by Mucoralean fungus

Dayana Montero Rodríguez^{1,2}, Rafael S. Mendonça^{2,3}, Adriana F. Souza², Rosileide Fontenele da Silva Andrade^{2,4}, Isabela N. S. Ferreira^{2,5}, Renata A. Santos^{2,3}, Lucas Albuquerque Rosendo da Silva^{2,3}, Galba Maria de Campos Takaki²

(1) Catholic University of Pernambuco, Post-Doctorate National Program-CAPES, Rua do Príncipe 526, Boa Vista, 50050-900, Recife, Brazil

(2) Catholic University of Pernambuco, Nucleus of Research in Environmental Sciences and Biotechnology, Rua Nunes Machado 42, Bloco J, Térreo, Boa Vista, 50050-590, Recife, Brazil

(3) Catholic University of Pernambuco, Post-graduation Program in Development of Environmental Processes, Rua do Príncipe 526, Boa Vista, 50050-900, Recife, Brazil

(4) Catholic University of Pernambuco, Centre for Biological Sciences and Health, Rua do Príncipe 526, Boa Vista, 50050-900, Recife, Brazil

(5) Federal Rural University of Pernambuco, Northeast Network in Biotechnology, Rua Manuel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Brazil

Biosurfactants are amphipathic molecules with growing worldwide interest because of their low toxicity, high biodegradability and good ecological acceptability. They are produced by bacteria, yeast and filamentous fungi and between them, fungi belonging Mucorales order have been reported as promising biosurfactant-producing microorganisms. However, most of these studies still use traditional submerged fermentation, a methodology with technical and economic problems. In this context, this work aimed the production of biosurfactant by a Mucoralean fungus, *Mucor hiemalis* UCP 1309, using solid-state fermentation (SSF) as a low-cost alternative technology. Experiments were carried out in Erlenmeyers flasks containing 5 g of agro-industrial byproducts or wastes as substrates, supplemented with salt solution containing 5% waste soybean oil (WSO), at 28°C for 120 h in static conditions. After this period, production media were incubated three times with distilled water and the production of biosurfactant was investigated by measurement of surface tension on cell-free metabolic liquids obtained by filtration and centrifugation of extracts. Then, the substrate with the best result was used in a 22 full-factorial design (FFD) in order to investigate the influence of inoculum size and concentration of WSO in reduction of surface tension. Emulsifying properties of crude biosurfactant were assessed by determination of emulsification index (EI₂₄) against vegetable and petroderivatives compounds. The results showed that the medium containing wheat bran was the most promising in the production of biosurfactant, with the lower surface tension value (28.1 mN/m). According to the statistical analysis, concentration of WSO demonstrated significant effect on reduction of surface tension. In addition, the biosurfactant produced by *M. hiemalis* exhibited good emulsifying properties with WSO (80%), motor oil (77.8%) and burned motor oil (70.8%), and the emulsions remained stable after 90 days of incubation. Therefore, this study confirmed SSF as a suitable strategy for getting inexpensive and efficient biosurfactant and expediting its large-scale production.

Financing: CAPES, FACEPE and CNPq.

Identificación de marcadores moleculares para la detección temprana de fermentaciones detenidas asociadas a shock térmico

María Cecilia Lerena^{1,2}, Andrea Susana Vargas Trinidad², Javier Alonso Del Real³, María Cecilia Rojo^{1,2}, María Lorena Ponsone^{1,2}, Carolina Torres-Palazzolo^{1,2}, Laura Analía Mercado¹, Amparo Querol³, Diego Claudio Lijavetzky^{2,4}, Mariana Combina^{1,2}

(1) INTA EEA Mendoza, Laboratorio de Microbiología Enológica, San Martín 3853 Lujan de Cuyo, Mendoza, Argentina

(2) CONICET, CCT MENDOZA, Av. Ruiz Leal s/n Parque General San Martín., Mendoza, Argentina

(3) Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos, Sistemas Biológicos en levaduras de interés Biotecnológico, CSIC, C/ Catedrático Agustín Escardino Benlloch, 7, Paterna, Valencia, España

(4) Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM), Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo, Almirante Brown 500 (5505) Chacras de Coria, Luján de Cuyo- Mendoza, Argentina

Las levaduras del género *Saccharomyces* son las responsables de la fermentación alcohólica (FA). Las paradas y enlentecimientos de las FA son un problema recurrente que afecta a la industria vitivinícola. En un estudio previo, se demostró que elevaciones bruscas de temperatura podían producir fermentaciones enlentecidas. Shocks térmicos aplicados 36°C y 40°C en etapas tempranas de la FA produjeron enlentecimientos de la fermentación con diferentes intensidades de acuerdo con la temperatura aplicada y la cepa de levadura utilizada. Dos de las cepas de *S. cerevisiae* evaluadas mostraron diferente termotolerancia al ser sometidas a elevaciones bruscas de temperatura, siendo la cepa SBB11 la más sensible (las fermentaciones se enlentecieron tanto a 36 como a 40°C) y la cepa PDM la más resistente (sólo se evidenció un perfil enlentecido ante un shock de 40°C). Posteriormente, se realizó un estudio de la respuesta transcriptómica de SBB11 y PDM para comprender la respuesta molecular ante el shock térmico. A partir de los datos obtenidos se seleccionó un conjunto de genes con expresión diferencial entre condiciones control y fermentaciones languidecientes con potencial para ser empleados como biomarcadores. Las características deseadas para un buen biomarcador son que su expresión aumente significativamente sólo en condiciones de fermentaciones detenidas; y que dicho incremento en la expresión se mantenga en el tiempo. El objetivo de este estudio fue validar el uso de los genes biomarcadores seleccionados para detectar tempranamente fermentaciones problemáticas. Para ello, se realizaron microfermentaciones en mosto sintético utilizando SBB11 y PDM, al tercer día se aplicaron shocks térmicos a 36°C y 40°C durante 16 h en ensayos independientes por triplicado. Las células se colectaron a diferentes tiempos posteriores al inicio del shock térmico (40', 3h, 6h y 9h) para cada temperatura evaluada, así como los controles en los mismos momentos y se extrajo el ARN. La expresión de los genes candidatos a biomarcadores se cuantificó mediante qPCR. De los 10 genes seleccionados, se identificaron 3 (SSA1, OPI10 y MGA1) cuya expresión correlacionó correctamente con una fermentación problemática. La expresión de estos genes aumentó significativamente a diferentes tiempos posteriores al shock térmico de 36 y 40°C para la cepa SBB11, en ambos casos se trataba de fermentaciones enlentecidas. En contraste, el incremento en la expresión de estos genes por parte de la cepa PDM sólo se evidenció frente a un shock térmico de 40°C, única condición para la cual se observó un enlentecimiento significativo de la FA. Se identificó un cuarto posible gen candidato (SSA3) cuya expresión aumentó en FA enlentecidas, sin embargo, a las 6 y 9 horas posteriores comenzó a disminuir, por lo cual será reevaluado junto con los otros 3 en futuros ensayos con otras cepas.

Financing: El trabajo fue financiado por los siguientes proyectos: Proyecto PIP 0694 CONICET y Proyecto PICT 2016 3604

Detoxificación de hidrolizado hemicelulósico de biomasa de sésamo por ultrafiltración con membrana PES y evaluación de fermentabilidad por *Mucor circinelloides*

Gladys Azucena Romero Saldivar¹, Omayra Ferreiro¹, Juan Daniel Rivaldi¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Aplicaciones Industriales, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay

El uso de hidrolizado hemicelulósico como sustrato se encuentra limitado por la presencia de compuestos tóxicos generados en la hidrólisis ácida del material lignocelulósico, incluyendo furfural, 5-hidroximetifurfural y compuestos fenólicos. Estos compuestos afectan la asimilación de azúcares del hidrolizado y en algunos casos, inhiben el crecimiento microbiano y la fermentación para la obtención de bioproductos. La remoción de dichas sustancias tradicionalmente se realiza por precipitación y adsorción en carbón activado. Sin embargo, estos procesos requieren de varias etapas, tiempo y el uso de elevadas cantidades de ácido-base, siendo necesario la búsqueda de alternativas tecnológicas para la detoxificación. Una alternativa a éstos consiste en la utilización de procesos de separación por membranas que permitan la remoción de la mayor concentración de compuestos tóxicos en una única etapa. En este trabajo, hidrolizado hemicelulósico de sésamo fue detoxificado en un sistema de filtración por membrana de polietersulfona (PES) de 0,1 μm de tamaño de poro (previamente compactada con agua a 4 bar por 2h) y área efectiva de 95 cm^2 , montada en un módulo plano de flujo tangencial. Hidrolizado hemicelulósico de sésamo con 3,0 g/L de fenólicos fue filtrado a diferentes pH (1,5; 4,0; 7,0), el cual fue ajustado con NaOH (5,0 M). A fin de evaluar la fermentabilidad del hidrolizado fueron preparados medios de cultivo en frascos conteniendo hidrolizado de sésamo con y sin tratamiento por membranas, siendo el medio compuesto de azúcares totales (20 g/L), cloruro de amonio de amonio (0,5 g/L), sulfato bibásico de potasio (0,5 g/L), suplementado o no con extracto de levaduras (0,5 g/L), pH inicial 5,5. Los frascos fueron inoculados con 1.105 esporos/mL de *Mucor circinelloides* f. *lusitanicus* NRRL 363 e incubados a 30°C por 96 h bajo agitación a 150 rpm. Fueron obtenidas muestras a intervalos de 24 h a fin de determinar la concentración de biomasa fúngica, azúcares totales y compuestos fenólicos. El proceso de separación por membranas permitió una remoción máxima de compuestos fenólicos, con una eficiencia de remoción del 73,3% alcanzado en un único paso para la presión transmembrana (?P) de 4 bar y pH 7. La máxima concentración de biomasa de *M. circinelloides* fue 4,44 g/L, alcanzado a las 96h de cultivo, en medio conteniendo hidrolizado filtrado y suplementado con nutrientes. En el medio con hidrolizado detoxificado por filtración sin suplementación, el contenido de biomasa celular fue 28% inferior (3,46 g/L), ya en hidrolizado crudo (sin filtración) mostró fase de latencia extendida y crecimiento lento, alcanzado concentración máxima de 2,02 g/L a 96 h de cultivo. De esa forma, la detoxificación promovió producción en biomasa 125% superior, con parámetros de conversión (YX/S) y productividad volumétrica (QX) mayores, cuando utilizado hidrolizado detoxificado y suplementado. Palabras-claves: hidrolizado de sésamo, compuestos fenólicos, detoxificación, fermentabilidad

Financing: CONACYT (POSG16-2)

Estudio de la fermentación espontánea de uvas de viñedos de Concordia (Entre Ríos- Argentina).

María Belén Corrado¹, Cristina V. Davies¹, Carina A. Soldá¹, María Victoria Lupiañez¹, Cecilia Cabrera², Liliana M. Gerard¹

(1) Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de Alimentos (MIBIAL), Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER), Concordia (ER), Argentina

(2) Laboratorio de Análisis de Metales en Alimentos y otros Sustratos (LAMAS), Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER), Concordia (ER), Argentina

Las fermentaciones espontáneas se producen con levaduras provenientes de la uva sin inoculación externa. En los primeros días, los géneros mayoritarios son los pertenecientes a las no-Saccharomyces. Posteriormente, se reduce su número, dando paso al crecimiento de levaduras más tolerantes al etanol como las Saccharomyces. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la fermentación espontánea en mostos de los cultivares Tannat y Marselán de la región de Concordia de la vendimia 2020. Para ello se pesaron y descobajaron 200 g de uvas de ambas variedades. Se estrujaron asépticamente, en stomacher durante 20 segundos. Los mostos se suplementaron con 85mg/L metabisulfito de sodio y se dejaron fermentar espontáneamente a 25°C durante 10 días. Diariamente, se tomaron alícuotas para recuento de levaduras totales en agar YPDC (1% extracto de levadura, 2% peptona, 2% glucosa, 1,5% agar) con 30 µg/mL cloranfenicol, recuento de no-Saccharomyces en agar YPDC y 0,4 µg/mL cicloheximida (YPDCI) que inhibe Saccharomyces y agar diferencial WL (Oxoid). Se incubaron a 25°C durante 48 h. Las colonias de levaduras se identificaron mediante su morfología característica. Paralelamente, se determinaron por triplicado, sólidos solubles (SS), acidez total, concentración de etanol y contenido de carbono (C), este último con el fin de corroborar la formación de dióxido de carbono. Mediante el software Statgraphics Centurión XV Corporate se obtuvieron los coeficientes de correlación (r) de Pearson ($p < 0,05$) entre los parámetros medidos. En función de las características de las colonias aisladas en agar WL se observó que en ambos cultivares, al inicio de la fermentación se desarrollaron sólo las no-Saccharomyces (colonias verdes) (5.106 UFC/g en YPDC y WL). En la etapa intermedia, las levaduras totales se mantuvieron en 106 UFC/g, sin embargo, las no-Saccharomyces disminuyeron hasta 105 UFC/g en Tannat y 104 UFC/g en Marselán. Al final de la fermentación en ambas variedades, las Saccharomyces (colonias blancas) alcanzaron 103 UFC/g en detrimento de las no-Saccharomyces que disminuyeron a 102 UFC/g. En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, para Tannat los SS disminuyeron de $23,3 \pm 0,2$ a $7,6 \pm 0,1$ °Bx, la acidez varió de $4,37 \pm 0,28$ a $7,91 \pm 0,1$ g ácido tartárico/L, la concentración de etanol final resultó $6,86 \pm 0,06$ % v/v y el C se redujo de $8,61 \pm 0,04$ a $5,42 \pm 0,04$ g/100 g. Para Marselán, los SS disminuyeron de $23,8 \pm 0,1$ a $7,7 \pm 0,1$ °Bx, la acidez varió de $4,09 \pm 0,37$ a $9,02 \pm 0,10$ g ácido tartárico/L, la concentración de etanol resultó $9,07 \pm 0,20$ % v/v y el C se redujo de $8,80 \pm 0,26$ a $5,90 \pm 0,79$ g/100 g. Se determinó una elevada correlación lineal negativa entre SS y etanol para ambas variedades ($r = 0,99$) y SS y acidez ($r = 0,88$ para Tannat y $r = 0,95$ para Marselán). Entre C y SS las correlaciones resultaron positivas y elevadas ($r = 0,98$ para Tannat y $r = 0,95$ para Marselán). Este estudio mostró que las levaduras Saccharomyces y las no-Saccharomyces autóctonas de las uvas coexistieron en el transcurso de la fermentación, fueron capaces de transformar los azúcares en etanol y dióxido de carbono. También permitirá profundizar en las propiedades enológicas de las cepas aisladas para optimizar el proceso fermentativo.

Evaluación de la secreción heteróloga de dos péptidos hormonales por un sistema exportador ABC bacteriano

Valeria Florez¹, Juan José Marizcurrena², Magela Laviña¹, Ma. Fernanda Azpiroz¹

(1) Universidad de la República, Sección de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay

(2) Universidad de la República, Fisiología y genética bacterianas, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay

La producción de proteínas recombinantes es una herramienta biotecnológica importante que tiene múltiples aplicaciones. Existen varios sistemas de expresión, siendo *Escherichia coli* el hospedero más utilizado. En cuanto a la secreción, hay algunas descripciones que emplean el exportador ABC de la alfa-hemolisina para la exportación de proteínas recombinantes en esta bacteria. Sin embargo, el proceso suele ser poco eficiente y la proteína de interés es recuperada con secuencias adicionales. En este trabajo se analiza un tipo de exportador ABC de *E. coli* encargado de la secreción de unos péptidos antibióticos denominados microcinas, que tienen un tamaño de entre 60 y 90 aa. Estos péptidos comparten un dominio de secreción (DS) de unos 15 aa. en su extremo amino terminal. El DS es reconocido y cortado por el exportador ABC durante la secreción de modo que la microcina alcanza el medio extracelular sin este dominio. Nuestra experiencia previa indica que estos exportadores pueden secretar de forma heteróloga algunas microcinas con alta eficiencia a través del reconocimiento del DS. En base a estos antecedentes, el objetivo es evaluar el exportador ABC de una de las microcinas como nueva alternativa para la secreción de péptidos recombinantes en *E. coli*. Se eligió ensayar la secreción de dos péptidos hormonales vinculados al metabolismo del calcio: la parathormona (84 aa.) y su derivado activo más pequeño (34 aa.). La estrategia general consistió en construir péptidos híbridos formados por el DS de una microcina seguido del péptido hormonal, de modo que el exportador reconozca y procese el DS secretando el péptido recombinante en su forma nativa. Para ello, se generaron dos tipos de construcciones recombinantes, una codificante del exportador y otra codificante de cada péptido híbrido, y se introdujeron en células de *E. coli* para buscar las hormonas en los sobrenadantes de los cultivos. Se añadió una cola de seis histidinas en la porción carboxilo terminal de los péptidos para eventualmente purificarlos en caso de comprobar su secreción. La detección e identificación de los mismos se efectuaría por métodos inmunológicos y espectrometría de masas. Primero, se construyó un plásmido recombinante codificante para el exportador ABC poniendo a punto las condiciones óptimas para su funcionalidad y la viabilidad celular. Posteriormente, se construyeron las fusiones génicas codificantes para los péptidos híbridos que se clonaron en un vector pET. Se constituyó así un sistema de expresión inducible por lactosa o IPTG adicionado de un sistema de secreción ABC en la cepa *E. coli* BL21(DE3). Actualmente, se está analizando el crecimiento de las células portadoras de las parejas sustrato-exportador, evaluando distintos medios de cultivo y niveles de inducción. Hasta el momento, se ha logrado recuperar en el sobrenadante péptidos que podrían corresponder a las hormonas recombinantes. Se está en el proceso de confirmar su identidad así como de comprobar que su presencia se debe a una secreción específica ABC. El éxito en la secreción de estos péptidos resultaría de interés biotecnológico, ya que simplificaría el proceso de producción al poder purificarlos desde el medio extracelular en su forma nativa.

Financing: Financiado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) de Uruguay

Diseminación de cepas de *Brettanomyces bruxellensis* en bodega durante la conservación en barricas

María Elena Sturm¹, Valeria Chimeno¹, Magalí Lucía González², María Cecilia Lerena², Ariel Massera¹, Laura Analía Mercado¹, Mariana Combina^{1,2}

(1) INTAEEA Mendoza, Laboratorio de Microbiología Enológica, San Martín 3853, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

Brettanomyces bruxellensis ha sido descrita como la principal levadura contaminante de vinos tintos. Debido a su lento crecimiento y elevada resistencia al etanol suele aparecer en las últimas etapas de la vinificación y añejamiento en barrica. Existen escasos estudios que aborden la diversidad de cepas presentes en las bodegas y su diseminación. Conocer la diversidad de cepas de estas poblaciones y su distribución en los diferentes vinos, puede contribuir a revelar el origen y momento de la contaminación, permitiendo el diseño de estrategias de prevención y control. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la incidencia y diversidad de cepas de *Brettanomyces bruxellensis* durante la conservación en barricas de vinos tintos en una misma bodega. Para ello se tomaron 4 vinos tintos (Merlot, Cabernet Sauvignon y 2 Malbec) los cuales fueron analizados en 7 momentos: antes del llenado de las barricas y durante los primeros 6 meses de crianza (5 barricas para cada vino). Otras muestras de vinos positivos para *Brettanomyces* en la misma bodega fueron incluidas para ampliar la detección de la diseminación de cepas. Muestras de 100 mL fueron filtradas, colocadas en medio selectivo para *Brettanomyces* e incubadas a 28 °C por 14 días. Colonias representativas fueron identificadas y tipificadas a nivel de cepa mediante el marcador molecular RAPD M13. Los resultados mostraron que 3 de los 4 vinos analizados fueron positivos para *Brettanomyces* antes del llenado de las barricas. Sin embargo la presencia de *Brettanomyces* en las barricas fue diferente según el vino. El análisis intra-específico mostró que 3 patrones moleculares (V, X, y XI) fueron detectados en diferentes muestras y en elevados porcentajes de incidencia, siendo reiteradamente aislados en muestras provenientes de distintos viñedos las cuales fueron vinificadas en diferentes momentos durante la vendimia. Además, el patrón molecular XI fue también detectado en muestras de barricas positivas en otros vinos provistos por la bodega. Los resultados sugieren que podría existir una población de *Brettanomyces bruxellensis* residente en bodega que contamina reiteradamente los vinos elaborados, tanto en etapas tempranas de la vinificación, como durante la conservación. Por otro lado, la práctica de "racking y sulfitado" que consiste en mezclar el vino de diferentes barricas en un tanque pulmón para la corrección de SO₂, produjo la diseminación de la contaminación en las barricas que fueron mezcladas. Este resultado se evidenció en recuentos positivos en muestras que fueron negativas antes de realizar esta práctica (a pesar del sulfitado) donde se observaron las mismas cepas distribuidas en diferentes barricas, lo que confirma la diseminación de la contaminación.

Biotecnología moderna y sus aplicaciones: Proteínas recombinantes frente a la Pandemia

Andrea Aluisa¹, Mishell Orozco¹, Alex Gavilanes¹, **Marbel Torres Arias¹**

(1) Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE., Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura, Laboratorio de Inmunología y Virología, Av. Gral. Rumiñahui s/n P.O. Box 171-5-231B, Sangolquí, Ecuador.

Las proteínas recombinantes, representan un mercado multimillonario a nivel de la industria biotecnológica. Para la producción de estas proteínas se utilizan actualmente diferentes sistemas de expresión: procariotas y eucariotas; entre ellos, las bacterias son los más interesantes como huéspedes de expresión, ya que son de fácil manejo y usadas como herramientas para su manipulación genética, pero existen otros tipos de sistemas de expresión como levaduras, células de origen animal, células de insectos, animales transgénicos y plantas transgénicas. La fabricación de proteínas terapéuticas recombinantes de alta calidad es crucial para su uso en humanos. Los enfoques recientes utilizados para la modificación de las proteínas recombinantes incluyen la selección de un huésped de expresión adecuado, la glico-ingeniería y la optimización del proceso previo para controlar la glicosilación de las proteínas. El desarrollo en ingeniería metabólica también incluye el uso de herramientas de edición de genes para la producción exitosa de clones y productos (RNAi, ingeniería de ribozimas y técnicas basadas en CRISPR-Cas), estos se han aplicado en la búsqueda de mejores estrategias para la producción de anticuerpos. En nuestro estudio nos enfocamos a la expresión de proteínas recombinantes contra el coronavirus (Sars CoV-2) principalmente en las proteínas Spike (S) a partir del plásmido pGBW-m4046828 de Ginkgo Bioworks & Benjie Chen y RBD (Receptor Binding Domain) de pcDNA3-SARS-CoV-2-S-RBD-8his de Erik Procko, además, se sintetizó la secuencia de ácido nucleico correspondiente a la nucleocápside del SARS-CoV-2 (Genewiz) y se clonó en el vector de expresión pET22b + junto con la etiqueta His (cola de 6 histidinas) C-terminal. Las proteínas se expresaron en células HEK293T y bacterias *Escherichia coli* BL21, se cosecharon al día 14 posterior a su transfección y 3 horas después de la inducción a su expresión respectivamente, de las cuales se obtuvo aproximadamente 4 ug/uL y 30 ug/uL para cada sistema. Las proteínas recombinantes Spike y RBD se purificaron por cromatografía de afinidad a partir del lisado celular y el sobrenadante mediante agarosa Ni-NTA (GE) en condiciones nativas. La pureza de las proteínas se evaluó por SDS-PAGE. Y, finalmente se realizó un ensayo de ELISA indirecto para determinar su especificidad mediante un cut off multiplicado por tres desviaciones estándar. En ensayos futuros se inocularán 5ug/mL de cada proteína en grupos de ratones de cepa Balb/c para la expresión de anticuerpos neutralizantes. En conclusión, la biotecnología ha tenido un incremento muy relevante en la investigación como herramienta molecular para la producción de proteínas recombinantes empleando varios sistemas de expresión, los cuales han sido considerados indicadores epidemiológicos y utilizados para el desarrollo de vacunas.

Financing: Proyecto financiado por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE

Selección y evaluación de propiedades enológicas de levaduras nativas aisladas de uvas de la variedad Tannat.

María Belén Corrado², Cristina V. Davies², Carina A. Soldá², Fernando Bello¹, Vanesa Lare¹, Liliana M. Gerard²
(1) Departamento Frutales, Estación Experimental Agropecuaria INTA Concordia, Concordia (ER), Argentina
(2) Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de Alimentos (MIBIAL), Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER), Concordia (ER), Argentina

Las levaduras son organismos eucariotas ubicuos con gran diversidad fisiológica que pueden crecer en un amplio rango de hábitats. Las uvas son reservorios para especies de levaduras debido a su alta concentración de azúcares simples y bajo pH. Al comienzo de la fermentación espontánea del mosto de uva se encuentran las levaduras no-*Saccharomyces* ya que son las predominantes en las uvas. Posteriormente, después de unos días éstas reducen su número, dando paso al crecimiento de la especie fermentadora por excelencia, *Saccharomyces cerevisiae*. Los objetivos del presente estudio fueron aislar levaduras en distintas etapas de la fermentación espontánea de mostos de uvas de la variedad Tannat de Concordia (Entre Ríos) de la vendimia 2020, su identificación mediante PCR-RFLP y la determinación de parámetros fisicoquímicos característicos para la selección de aquellas con mejores propiedades enológicas. Se observó la morfología de las colonias en agar WL (Wallerstein Laboratory) y morfología celular en microscopio, para la identificación molecular se extrajo el ADN genómico por el método CTAB (bromuro de cetil - trimetil amonio), posteriormente, se hizo PCR de la región ITS-5.8S y corte con enzimas de restricción: CfoI, HaeIII y HinfI. Para las propiedades enológicas se utilizó caldo YPD (1% extracto de levadura, 2% peptona, 2% glucosa), suplementado con 10% glucosa y tubos provistos de airtok; para la tolerancia al etanol se agregó (10, 12,5 y 15 % v/v) de etanol y para la resistencia al anhídrido sulfuroso (100 y 150 ppm) de dicho compuesto. Se observó capacidad de formar sedimento y película o anillo. Se inoculó con 10⁸ UFC/mL, se incubaron 12 días a 25±2 °C. El etanol se determinó por la técnica espacio de cabeza "headspace" por cromatografía gaseosa, se expresó en %v/v. Cada muestra fue analizada por triplicado. Se utilizaron como patrones *S. cerevisiae* ATCC 9763 y *S. cerevisiae*, cepa comercial IOC 18-2007, Institut Oenologique de Champagne. Los resultados indicaron que de un total de 30 cepas aisladas, se identificaron 7 como *S. cerevisiae*, de acuerdo a los estudios moleculares antes descripto (cepas codificadas como T40, T44, T48, T62, T70, T71 y T72). La observación macroscópica en agar WL mostró colonias redondas, con borde definido, de color verde claro o blanco amarillento, consistencia cremosa y forma umbricada. En cuanto a la observación microscópica, las cepas presentaron forma globosa, ovalada o redondeada, con gemación multipolar. Según el análisis de sus parámetros enológicos, no presentaron diferencias marcadas entre sí, todas exhibieron formación de sedimento, caldo límpido y sin formación de anillo o película, todas toleraron hasta 15 % de etanol excepto la cepa T62 que sólo creció en 10 % v/v. Con respecto a la resistencia al anhídrido sulfuroso, T71 resistió solo 100 ppm, mientras que las otras toleraron hasta 150 ppm. En relación al contenido de etanol producido, T70 produjo 7,91 ± 0,6 % v/v, el mayor valor alcanzado en las cepas estudiadas, inclusive en las cepas patrones utilizadas. El presente estudio reveló el potencial de las levaduras nativas de Tannat para ser utilizadas como cultivos iniciadores en la producción de vinos.

Estudios de liberación controlada y vida útil de formulaciones encapsuladas de *Trichoderma koningiopsis* (Th003) para el control de fitopatógenos

Mauricio Cruz Barrera¹, Liz Alejandra Uribe Gutierrez², **Adriana Marcela Santos Diaz**³

(1) Corporación colombiana de investigación agropecuaria - Agrosavia, Sede Central. Departamento de Bioproductos, Km 14 vía Mosquera - Bogotá, Mosquera, Colombia

(2) Corporación colombiana de investigación agropecuaria - Agrosavia, Centro de investigación Tibaitatá., Km 14 vía Mosquera - Bogotá, Mosquera, Colombia

(3) Corporación colombiana de investigación agropecuaria - Agrosavia, Centro de investigación Tibaitatá, Km 14 vía Mosquera - Bogotá, Mosquera, Colombia

La utilización de bioinsumos agrícolas en la cadena hortícola, busca la disminución en el uso de agroquímicos. Sin embargo, se requieren nuevas estrategias de formulación que maximicen el control de patógenos, la adquisición de nutrientes, el uso eficiente del recurso hídrico y la obtención de productos inocuos. *T. koningiopsis* (Th003) ha demostrado actividad antagonista contra *Botrytis cinerea* en mora, *Sclerotium cepivorum* en ajo, *S. sclerotiorum* y *S. minor* en lechuga, *Fusarium oxysporum* en tomate y *Rhizoctonia solani* en arroz. Actualmente, se cuenta con un bioinsumo a base de Th003 (Tricotec®), registrado como un polvo mojable, que reduce las afectaciones por patógenos y mejora los rendimientos de varios cultivos. No obstante, formulaciones como los polvos mojables involucran operaciones costosas de molienda que afectan la efectividad de los principios activos a largo plazo, así como grandes cantidades de agua para su activación y aplicación. Buscando procesos eficientes y formulaciones más versátiles para los bioplaguicidas, se diseñaron 4 prototipos (P1, P2, P3 y P4) de cápsulas de hidrogel con conidios inmovilizados de la cepa Th003. Estos prototipos se caracterizaron por su tamaño (mm), liberación de conidios en diferentes condiciones de pH (5.8, 6.5, 7.0 y 7.4) y su estabilidad en condiciones de almacenamiento a 8°C, 18°C y 28°C. El diámetro de las cápsulas de P1 y P3 se encontraron dentro de un rango mínimo de 66 y 69 hasta 100 mm; P2 y P4 presentaron un rango entre 100 y 213 mm. El pH 5.8 afectó la liberación de conidios en todos los prototipos, en donde el P1 presentó una menor liberación en el tiempo. Los prototipos evaluados presentaron mayores vidas útiles a 8°C, siendo mayor para el P3. Esta nueva formulación permitirá reducir la cantidad de principio activo requerida, aumentar la vida útil, disminuir las dosis de aplicación del producto terminado en campo y garantizar la liberación sostenida del principio activo.

Financing: Este proyecto fue financiado por la Corporación colombiana de investigación agropecuaria - Agrosavia y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) [Proyecto ID1000844]

Pigmentos de origen bacteriano: Una mirada a su potencial biotecnológico.

Rodrigo Salazar^{1,2}, Andrés Santos¹, Camila Silva³, Aurora Prado¹, Boris Pavez³, Leticia Barrientos^{1,2}

(1) Universidad de La Frontera, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Facultad de Medicina, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Nucleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Departamento de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los microorganismos se consideran uno de los nichos más prometedores para la prospección, producción y aplicación de compuestos bioactivos de interés biotecnológico. Entre ellos, las bacterias ofrecen ciertas ventajas distintivas debido a su corto ciclo de vida, su baja sensibilidad a los cambios estacionales y climáticos, su fácil escalamiento, así como su capacidad de producir pigmentos de variados colores y tonos. Los pigmentos de origen natural desempeñan un papel importante en la fisiología y los procesos moleculares de los microorganismos, ya que actúan como método de adaptación a diversos entornos extremos, tienen una función protectora frente a la radiación solar y también participan en procesos funcionales como la fotosíntesis. Además, al estar influenciados por factores ambientales, los microorganismos dan lugar a una variedad de pigmentos con características únicas relacionadas principalmente con la conexión entre el microorganismo y su ecosistema. Por otro lado, los pigmentos naturales han atraído la atención de la industria debido al creciente interés en la generación de nuevos productos inocuos para el ser humano y la naturaleza. Esto se debe a que los pigmentos de origen artificial utilizados en la industria pueden tener diversos efectos nocivos. Nuestro objetivo consiste en analizar el potencial biotecnológico de una extraordinaria gama de pigmentos bacterianos de diferentes colores obtenidos desde ambientes extremos, los cuales han demostrado poseer una alta estabilidad térmica y fotoestabilidad, como también capacidades antioxidantes y propiedades de fotoprotección. Sobre esta base, los pigmentos bacterianos prometen ser un atractivo nicho de nuevas aplicaciones biotecnológicas, desde la producción de alimentos funcionales, su aplicación en la industria fotovoltaica hasta la generación de nuevos fármacos y terapias biomédicas.

Financing: Agradecimientos y Financiamiento: Proyectos DI17-0116 y DI21-2017 de la Universidad de La Frontera, NEXER (NXR17-0003) y Beca Doctorado Nacional 2021-21211104. Camila Silva agradece a Proyecto DIM20-0022 de la Universidad de la Frontera.

Nanopartículas de plata biogénicas con actividad antimicrobiana frente a biofilms.

María Belén Estevez¹, Sofía Raffaelli¹, Ricardo Faccio², Silvana Alborés¹

(1) Facultad de Química, Área de Microbiología, Universidad de la República, Avenida General Flores 2124, Montevideo, Uruguay

(2) Facultad de Química, Área de Física, Universidad de la República, Isidoro de María 1614, Montevideo, Uruguay

Las nanopartículas de plata tienen muy diversas aplicaciones, consecuencia de la gran variedad de propiedades fisicoquímicas que presentan. Entre estas se encuentran la liberación controlada de fármacos, el diagnóstico y el tratamiento del cáncer, el desarrollo de biosensores y el potencial antimicrobiano. Sobre este último punto, una de sus potenciales aplicaciones está en la terapia contra infecciones microbianas causadas por biofilms. El diferente comportamiento de los microorganismos en estas estructuras en comparación con las células planctónicas, además del difícil acceso de los fármacos dentro de la estructura, dificultan la terapia contra este tipo de infecciones. Los avances en nanotecnología proporcionan nuevos enfoques para prevenir y erradicar las infecciones relacionadas a los biofilms. En los últimos años la síntesis biológica de nanopartículas de plata ha ganado interés al permitir superar las desventajas de los métodos físicos y químicos (uso de compuestos tóxicos o condiciones de reacción muy drásticas). En este trabajo se sintetizaron nanopartículas de plata a partir del medio extracelular de dos hongos, *Phanerochaete chrysosporium* (PchNP) y *Penicillium expansum* (PeNP). Las nanopartículas fueron caracterizadas y se estudió la capacidad para erradicar e inhibir la formación de biofilms de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. El seguimiento de la biosíntesis se realizó mediante espectroscopía UV-visible en el rango de 250-800 nm y se determinó el pico máximo (correspondiente a la Resonancia del Plasmón de Superficie) en diferentes momentos. Las nanopartículas se caracterizaron para determinar tamaño, forma, carga neta y agentes estabilizantes (capping) mediante diferentes técnicas: Microscopía Electrónica de Transmisión, Difracción de Rayos X a Bajo Ángulo, Dispersión Dinámica de la Luz, Potencial Z y Microscopía Raman Confocal. La actividad frente a biofilms microbianos se realizó utilizando la técnica del cristal violeta. Se determinó en cada caso el porcentaje de erradicación del biofilm previamente formado, así como el de inhibición de su formación a distintas concentraciones de nanopartículas. Además, se realizaron estudios complementarios por Microscopía Confocal. Los resultados obtenidos mostraron que las PchNP fueron capaces de erradicar los biofilms de *C. albicans* y *E. coli* en tanto que las PeNP fueron capaces de erradicar los biofilms de *C. albicans*. En cuanto a la inhibición de los biofilms, las PeNP fueron capaces de inhibir la formación para *C. albicans* en concentraciones entre 58 y 3.6 pM, mientras que las PchNP mostraron inhibición de la formación de los biofilms de *C. albicans* en concentraciones entre 43 y 2.7 pM, *P. aeruginosa* en una concentración de 43 pM y *E. coli* en una concentración de 0.1 nM. Estos resultados evidencian el potencial uso de las nanopartículas de plata biogénicas para ser incorporadas en el desarrollo de nuevos materiales antibiofilm o en el desarrollo de estrategias terapéuticas frente a estas infecciones microbianas.

Financing: PEDECIBA, Comisión Académica de Posgrado (CAP), Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII)

Optimización de las condiciones de cultivo y caracterización parcial de la enzima celulasa producida por *Bacillus smithii* QT03 utilizando residuos agroindustriales como fuente de carbono.

Analyse Villanueva Gaete¹, Carlos Eduardo de Souza Teodoro², Ana Paula Martinazzo², Thaíza Coutinho², Amanda Rodrigues², Ariany Franco²

(1) Universidade Federal Fluminense, Pósgraduação em Tecnologia Ambiental, Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica, Volta Redonda, Brasil

(2) Universidade Federal Fluminense, Engenharia em agronegócios, Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica, Volta Redonda, Brasil

Bajo el concepto de economía circular, hoy en día son valorizados los procesos industriales que utilicen residuos agroindustriales como materia prima, por ejemplo, para la producción de biocombustibles, energía, plásticos e insumos en las industrias de alimentos y bebidas. Un mercado importante son las enzimas comerciales producidas por microorganismos que utilizan residuos agroindustriales como nutrientes. La celulasa es la tercera enzima más utilizada en diversos procesos, después de las proteasas y amilasas, cuya demanda ha ido aumentando en las industrias de detergentes, textiles, procesamiento de papel, alimentación animal, jugos de frutas, alimentos y bebidas y biocombustibles. Las celulasas son enzimas inducibles sintetizadas por una amplia gama de microorganismos, incluidos hongos y bacterias, durante su crecimiento en materiales celulósicos. El objetivo de este trabajo fue optimizar las condiciones de cultivo de la bacteria *Bacillus smithii* QT03, bacteria poco estudiada, pero con características interesantes para aplicaciones biotecnológicas, para inducir la producción de la enzima celulasa (endo- β -1,4 glucanasa) y la caracterización parcial de la celulasa producida por este microorganismo. En primer lugar, se evaluaron residuos agroindustriales como fuente de carbono en distintas concentraciones, estos fueron: bagazo de caña de azúcar, cáscara de coco, cascara de almendras, bagazo de malta y trozos de papel. También fueron evaluadas condiciones físicas de crecimiento: tiempo y temperatura de incubación del microorganismo. Para la caracterización parcial de la enzima se evaluó el tiempo de incubación y la estabilidad térmica de la celulasa. Los resultados demostraron que la producción enzimática en presencia de bagazo de malta (2%) como fuente de carbono fue superior a los demás residuos agroindustriales estudiados. En cuanto a las condiciones físicas, el tiempo ideal de incubación del microorganismo fue de 48 h a una temperatura de 35 °C. Ya en los resultados de la caracterización parcial de la celulasa, se observaron características termofílicas de la enzima por haber alcanzado la máxima actividad a 70 °C en el medio de reacción, así como también características termoestables por mantener el 100% de actividad al ser incubada a 55 °C durante 3 h y 58% de actividad a 60 °C durante 24 h. De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, la celulasa producida por *B. smithii* QT03 utilizando bagazo de malta (2%) como fuente de carbono presenta características interesantes para continuar con la caracterización y purificación total de la enzima para posibles aplicaciones industriales. Este es el primer trabajo que demuestra la producción de celulasa por la bacteria *B. smithii* QT03, destacando su potencial biotecnológico.

Financing: Beca de maestría otorgada por la Organización de Estados Americanos (OEA)

“Extremophilic Bacteria and Archaea highly resistant to metals: Importance for Biomining”

Carlos Antonio Jerez Guevara¹

(1) University of Chile, Department of Biology, Faculty of Sciences, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

Industrial biomining has been extensively used for many years to recover valuable metals such as copper, gold, uranium, and others. Microorganisms involved in these processes can also be useful to bioremediate places contaminated with acid and metals. These applications are possible due to the great metal resistance of these extreme acidophilic microorganisms. In this presentation, the most recent findings related to copper resistance mechanisms of bacteria and archaea related to biohydrometallurgy will be presented. Search for novel metal resistance determinants is not only of scientific interest but also of industrial importance, as reflected by the genomic sequencing of microorganisms present in mining operations and the search of those bacteria with extreme metal resistance to improve the extraction processes used by the biomining companies. Martínez-Bussenius, C., Navarro, C.A. and Jerez, C.A. (2017) Microbial copper resistance: importance in biohydrometallurgy. *Microbial Biotechnol* 10: 279-295 Jerez, C.A. (2017) Biomining of metals: how to access and exploit natural resource sustainably. *Microbial Biotechnol* 10: 1191-1193 Jerez, C.A. (2017) Bioleaching and Biomining for the Industrial Recovery of Metals, In Reference Module in Life Sciences, pp. 1-14. Elsevier, ISBN 9780128096338 Vargas-Straube, M.J., Beard, S., Norambuena, R., Paradela, A., Vera, M. Jerez, C.A. (2020). High copper concentration reduces biofilm formation in *Acidithiobacillus ferrooxidans* by decreasing production of extracellular polymeric substances and its adherence to elemental sulfur. *Journal of Proteomics* 225 (2020) 103874 Recalde, A., vanWolferen, M., Sivabalasarma, S., Albers, S.-V., Navarro, C.A., Jerez, C.A. (2021) The Role of polyphosphate in motility, adhesion, and biofilm formation in Sulfolobales. *Microorganisms*, 9, 193. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010193>

Financing: Proyecto FONDECYT 1191554 and University of Chile

Coexistencia de una inusual diversidad microbiana en Isla Decepción, Antártica

Jenny M. Blamey¹

(1) Fundación Biociencia, Departamento de Investigación y Desarrollo, José Domingo Cañas 2280, Ñuñoa, Santiago, Chile

Dentro de la Antártica, la Isla Decepción constituye un ecosistema excepcionalmente raro que comprende una diversidad inusual de ambientes extremos los cuales coexisten, en un área geográfica muy pequeña confinada en este estratovolcán activo. Sus condiciones ambientales actuales albergan combinaciones únicas que constituyen un desafío para la vida. La geología y el clima extremo han dado forma a la historia evolutiva de los microorganismos que viven en estas condiciones tan extremas. Esto incluye ambientes congelados como permafrost, glaciares, pero también sitios geotérmicos, emisiones de fumarolas y respiraderos hidrotermales marinos. Todo lo descrito, convierte a Decepción en un punto de acceso para el descubrimiento de microorganismos extremófilos con múltiples resistencias al estrés y con biomoléculas muy interesantes. Debido a su naturaleza, la estructura microbiana y la dinámica de este complejo ecosistema está muy poco estudiada. La presencia de condiciones ambientales radicalmente diferentes que coexisten geográficamente muy próximas, nos permite esperar una comunidad microbiana inusualmente diversa, en su mayoría compuesta por organismos extremófilos, capaces de vivir optimamente confrontados a diversos factores de estrés. La fragilidad intrínseca de este ecosistema prístino resalta aún más el valor de obtener una mirada de los componentes microbianos que la conforman y de algunas de sus biomoléculas. En este trabajo presentaré algunos de los microorganismos extremófilos que hemos aislado de Isla Decepción, mediante técnicas microbiológicas clásicas, adaptadas para el trabajo con extremófilos. Además presentaré algunas de las biomoléculas que hemos purificado y caracterizado bioquímicamente a partir de ellos. Estas biomoléculas presentan interesantes propiedades para aplicaciones industriales.

Financing: Fundación Biociencia, Santiago, Chile

SYNTHESIS OF PROPYL GALLATE USING *Aspergillus fumigatus* CAS21 TANNASE DRIED BY SPRAY-DRYING TECHNOLOGY

Rayza Morganna Farias Cavalcanti¹, Marcelo Luís Lombardi Martinez², Wanderley Pereira Oliveira², Luis Henrique Souza Guimarães³

(1) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Química, Av. Prof. Francisco Degni, 55 - Jardim Quitandinha, Araraquara, São Paulo, Brasil

(2) Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Av. do Café, s/n - Vila Monte Alegre, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

(3) Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Av. do Café, s/n - Vila Monte Alegre, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

Tannin acyl hydrolase (tannase; EC 3.1.1.20) hydrolyzes tannic acid, releasing glucose and gallic acid, which in the presence of an organic solvent, can be esterified to propyl gallate. The propyl gallate (PG) is an ester of gallic acid capable of preventing oxidation reactions in pharmaceutical, nutraceutical and food products. Enzymatically, PG can be synthesized by the action of tannase with the ability to perform transesterification reactions. To enhance the use of enzymes in the synthesis of PG at the industrial level, spray drying technology are used in order to obtain stable enzymatic formulations. Therefore, this study aimed the synthesis of propyl gallate by spray dried tannase and the evaluation of antioxidant potential. The endophytic fungus *Aspergillus fumigatus* CAS21 was grown in submerged fermentation using mineral medium with 2% (w/v) tannic acid for 24 h, at 37 °C and 120 rpm. The dialysate containing tannase was subjected to drying in the Spray Dryer SD05 equipment (Lab-Plant UK) in the presence of lactose (10% w / v) as adjuvant, obtaining rounded microparticles with an average diameter of 13.66 µm and retention of 64.5% of the initial tannase activity. Amine, carboxyl and hydroxyl groups, detected in the infrared spectra with Fourier transform (FTIR), confirmed the presence of tannase in the microparticles. The tannase-containing powder was applied in the synthesis of propyl gallate and, after 96 hours of transesterification reaction, the thin layer chromatography analysis revealed the presence of PG, confirmed by FTIR. The peaks detected at 2960, 2850 and 1650 cm⁻¹ are characteristics of the PG molecule. The PG enzymatically synthesized exhibited antioxidant activity, as determined by the DPPH method, higher than the activity observed for commercial PG. In conclusion, the dried *A. fumigatus* CAS21 tannase in presence of lactose is an attractive alternative to synthesize propyl gallate, a molecule with antioxidant activity, revealing its potential for application in the food and pharmaceutical industries.

Financing: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP (Processo nº 2016 / 11311-5) and Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (CNPq) (Process nº 142389 / 2017-0).

Una nueva enzima lacasa termoestable aislada desde una bacteria termoalcalifílica para la biodegradación de colorantes sintéticos.

Giannina Espina¹, Guillermo Mejías-Navarrete¹, Paulina Cáceres-Moreno¹, Jenny M. Blamey^{1,2}

(1) Fundación Biociencia, José Domingo Cañas 2280, Ñuñoa, Santiago, Chile

(2) Fundación Biociencia, Jose Domingo Cañas 2280, Ñuñoa, Santiago, Chile

Los colorantes sintéticos son una gran preocupación medioambiental debido a su uso generalizado y su baja tasa de eliminación. Se estima que más de 10,000 tintes diferentes se utilizan industrialmente con más de 7x10⁵ toneladas producidas anualmente en todo el mundo. Desafortunadamente, la mayoría de los colorantes escapan de los procesos convencionales de tratamiento de aguas residuales y persisten en el medio ambiente porque son recalcitrantes a la degradación debido a su alta estabilidad a la luz, temperatura, detergentes, químicos, etc. Solo en la industria textil, alrededor de 200,000 toneladas de estos colorantes son liberados a los efluentes cada año. Por lo tanto, la decoloración de las aguas residuales es tremendamente importante y necesaria. Las lacasas (EC 1.10.3.2) son enzimas que catalizan la oxidación de una amplia gama de compuestos fenólicos, aminas aromáticas e iones inorgánicos. Debido a su baja especificidad de sustrato, versatilidad y facilidad de uso, son de gran importancia biotecnológica y tienen el potencial de ser utilizadas en muchas aplicaciones industriales, incluida la biorremediación. Este trabajo de investigación presenta una nueva lacasa termoestable obtenida de una bacteria termoalcalifílica, formadora de esporas que fue aislada a partir de una muestra ambiental recolectada desde un sitio geotermal. El microorganismo con condiciones óptimas de crecimiento a pH 8.0 y 50 ° C fue identificado como *Bacillus* sp. FNT, y la lacasa nativa se purificó a partir de sus esporas. Luego se produjo una versión recombinante de esta enzima en *E. coli*, y tras solucionar problemas iniciales de solubilidad, se confirmó la sobreexpresión funcional. Posteriormente se caracterizó bioquímicamente esta enzima demostrando ser termoestable y termoactiva con una actividad específica superior a las lacasas mesófilas de origen fúngico actualmente disponibles comercialmente. Más interesante aún, se comprobó que esta enzima puede degradar de manera eficiente distintos tipos de colorantes recalcitrantes de las familias azo (rojo Congo, naranja de metilo, rojo de metilo), triarilmetano (azul de Coomassie, cristal violeta, azul de bromofenol, verde de malaquita el azul) y Antraquinónicos (Azul brillante de Remazol (RBB)) en solo 30 min utilizando el mediador redox natural acetosiringona.

Financing: ANID/CONICYT PCI NSF190024CORFO INNOVA N°15IPPID-45682

Use of antisense RNA for controlling the metabolic flux in the shikimic acid production

Jordy Alexis Lerma Escalera^{1,2}, María Elena Cantú Cárdenas¹, José Ruben Morones Ramírez^{1,2}

(1) Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Universidad s/n. CD. Universitaria, 66455, San Nicolás de los Garza, México

(2) Universidad Autónoma de Nuevo León, Centro de Investigación en Biotecnología y Nanotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Parque de Investigación e Innovación Tecnológica, Km. 10 autopista al Aeropuerto Internacional Mariano Escobedo, 66629, Apodaca, México

Escherichia coli is one of the most important microorganisms for the production of industrial interest biomolecules. This is because of the extensive knowledge of its genome and the different tools that allow its edition. However, the production of intermediate metabolites is still a challenge. In this study, we have tested the use of antisense RNA mediated by the chaperon protein Hfq in the production of extracellular shikimic acid in *E. coli*. The shikimic acid is an intermediate metabolite at the aromatic amino acid pathway and the main precursor of oseltamivir, a drug used to fight the flu. We designed an antisense RNA targeting to *aroL* gene. The asRNA is made up of two parts: the sequences MicF M7.4 that is the Hfq binding site and the *aroL* binding region. The asRNA will be transformed in *E. coli* JW5947-1 using the plasmid pBR322 and the promoter PBAD to controlling the asRNA expression. *E. coli* JW5947-1 is characterized by has deletion in *aroK*. The use of asRNA increasing the production of extracellular shikimic acid to 12.86mg/L (± 1.7 mg/L) in comparison to the wild-type strain that only produce 6.20 mg/L (± 0.68 mg/L) in the fermentation at flask level. Also, the yield increasing to 0.15 mg/g after the induction of asRNA compared with the yield of 0.08 mg/g before the induction. The differences in the yield before and after induction suggests that the control of metabolic flux was successful.

Financing: The UANL and CONACyT for providing financial support through Paicyt 2016–2017 Science Grant from the UANL. CONACyT Grants for: Basic science grant 221332, Fronteras de la Ciencia grant 1502 and Infraestructura Grant 279957.

Hydrogen production enhancement using a degenerate strain of the anaerobic microorganism *Clostridium acetobutylicum*

Fabian Veliz de la Vega¹, Raul Conejeros¹, Geran Aroca¹

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Av. Brasil 2085, Valparaíso, Chile

Clostridium acetobutylicum produces organic acids and solvents from carbon-based substrates, with the simultaneous production of H₂. The growth of *C. acetobutylicum* cultured in batch fermentations shows three identifiable stages, acidogenesis (lactic, acetic, and butyric acid production), solventogenesis (acetone, butanol, and ethanol production) and a final stage with no production of acids or solvents, as cells become spores. During the acidogenic stage, the ratio between the organic acids produced has been directly related to H₂ production. It has been reported that butyric and lactate production are detrimental in the H₂ production as they replace H₂ production route in the recovery of NAD⁺ from NADH. H₂ production stops as the culture enters into the solventogenesis and sporulation stages. It has been found that the loss of the pSOL1 plasmid in *C. acetobutylicum* via repeated subcultures in batch culture leads to cells which do not have solventogenesis phase nor spore formation. Genome scale model (GEM) of *C. acetobutylicum*, was modified to represent pSOL1 loss and to simulate the batch culturing of the degenerate *C. acetobutylicum* strain, via dynamic flux balance analysis (dFBA). This model allowed the further prediction of in silico knock-outs leading to an increase in H₂ production. Several in silico mutants of the degenerate strain were obtained. Simulations using these mutants showed the knock-out of the lactate dehydrogenase (LDH) as the best candidate for the enhancement of H₂ production, predicting an increase 49.8 to 63.6%. Thus, this work focuses in obtaining a *C. acetobutylicum* degenerate strain (Δ pSol1/ Δ LDH) for the enhanced production of H₂. Laboratory work has allowed the isolation of a degenerate strain (Δ pSol1) by successive subcultures in batch using a minimal culture medium. Each subculture was carried for 48 h. After 26 subcultures, fermentation products showed a butyric acid titer, 2.1 g L⁻¹ and a residual titer of butanol (0 - 0.3 g L⁻¹). Cells of each subculture were microbiologically characterized, by growing them in agar plates under anaerobic conditions. After one week of incubation, several colonies were obtained, and according to literature, these corresponded with type III and type IV strains, both types of colonies presented irregular shapes with no-filaments, a light brown core and a white edge. In contrast, wild-type strains colonies can be described as filamentous. Further incubation of the identified colonies in anaerobic flasks using minimal medium for 48 h, biomass growth reached ~0.5 g L⁻¹ and a final pH of 4.7, similar to literature reports, in contrast, wild type strain biomass reached 1.6 g L⁻¹ and a final pH of 5.4. Further preliminary genomic analysis by PCR of the type IV with specific oligonucleotides, showed positive to the chromosome of *C. acetobutylicum* ATCC824, and it showed negative to the pSOL1 megaplasmid confirming the absence. In summary, this research allowed the successful isolation of a type IV degenerate strain showing residual butanol production and no spore production. Future work will concentrate in obtaining a Δ LDH mutant in order to increase H₂ production, as supported by in silico predictions using GEM.

Financing: DOCTORADO NACIONAL BECAS CHILE (2018) Grant N° 21181321

Evaluación del efecto de la composición del medio de cultivo en la producción de ácido láctico por una cepa antártica de *Carnobacterium* sp.

Camila Rodríguez¹, Maria Eugenia Vila¹, Maria Laura Camesasca¹

(1) Universidad de la Republica, Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería, Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo, Uruguay

En la actualidad, la producción de compuestos biológicos de interés comercial a partir del uso de tecnologías verdes se encuentra en auge, debido a la necesidad de contribuir al desarrollo de procesos sustentables. El ácido láctico ha ganado relevancia, gracias a la versatilidad de sus aplicaciones y a la posibilidad de ser producido de forma biotecnológica a partir de un gran número de microorganismos. Las bacterias del género *Carnobacterium* son capaces de producir ácido L-láctico. Estas pueden ser encontradas en ambientes muy variados que abarcan desde alimentos en descomposición hasta ambientes extremos como el antártico. En este trabajo se busca evaluar el efecto de los principales nutrientes del medio de cultivo en la producción de ácido láctico por una cepa de *Carnobacterium* sp., con el fin de optimizar su producción. Con este objetivo, se realizó un diseño compuesto central rotacional (DCCR) para cuatro variables independientes en dos niveles (alto y bajo). Los factores estudiados fueron fructosa, sulfato de amonio, extracto de levadura y extracto de carne. Las respuestas analizadas fueron: velocidad específica de crecimiento celular, velocidad inicial de la producción de ácido láctico y concentración de ácido láctico (en g/L). Cada corrida se realizó en condiciones anaerobias (en atmósfera de N₂), en botellas con sellado hermético de 100 mL, conteniendo 50 mL de medio de cultivo con pH inicial 8, a 20°C, durante 72 horas a 200 rpm en shaker con agitación orbital. El crecimiento celular fue analizado mediante la medida periódica de la densidad óptica del cultivo a 600 nm. Una vez finalizada la fermentación, las muestras fueron analizadas por HPLC (cromatografía líquida de alta eficiencia) para la detección y cuantificación de sustrato consumido y producto (ácido láctico) generado. Como resultado, se obtuvo para las tres respuestas estudiadas un buen ajuste del modelo (R² mayor a 88%). En el caso de la velocidad específica del crecimiento celular, la fructosa, el extracto de levadura y el sulfato de amonio presentaron un efecto positivo. Esto indica que cuanto más alta fue la concentración utilizada de estos factores, mayor será la respuesta. El valor máximo de la respuesta se obtiene cuando se utilizan 27,1 g/L de fructosa, 19,1 g/L de sulfato de amonio, 11,1 g/L de extracto de carne y 5,3 g/L de extracto de levadura. En el caso de la velocidad inicial de producción de ácido láctico, sólo la fructosa presenta un efecto positivo. La respuesta máxima se obtiene con 31,7 g/L de fructosa, 21,2 g/L de sulfato de amonio, 9,4 g/L de extracto de carne y 5,3 g/L de extracto de levadura. Para la concentración de ácido láctico, la fructosa y el extracto de carne presentaron un efecto positivo. En este caso, el valor máximo para la respuesta estudiada ocurre con 33,9 g/L de fructosa, 16,8 g/L de sulfato de amonio, 9,4 g/L de extracto de carne y 5,7 g/L de extracto de levadura. En trabajos futuros se plantea escalar el proceso a un biorreactor y estudiar las diferentes condiciones operativas del mismo utilizando el medio de cultivo optimizado.

Financing: Instituto Antártico Uruguayo

MICROENCAPSULATION OF THE *Aspergillus niger* ANG18 TANNASE USING SPRAY DRYING WITH DIFFERENT ADJUVANTS

Rayza Morganna Farias Cavalcanti¹, Marcelo Luís Lombardi Martinez², Wanderley Pereira Oliveira², Luis Henrique Souza Guimarães³

(1) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Química, Av. Prof. Francisco Degni, 55 - Jardim Quitandinha, Araraquara, São Paulo, Brasil

(2) Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Av. do Café, s/n - Vila Monte Alegre, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

(3) Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Av. do Café, s/n - Vila Monte Alegre, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

Tannase (tannin acyl hydrolase E.C. 3.1.1.20) hydrolyzes complex and hydrolysable tannins, presenting potential application in the chemical and food industries, as well as for the treatment of effluents. For industrial application it is necessary that the enzymes have greater stability, what can be obtained through microencapsulation using spray drying technology. Thus, this study aimed to investigate the effects of microencapsulation by spray drying on the retention of enzymatic activity and on the physical and chemical properties of the tannase produced by the fungus *Aspergillus niger* ANG18. The microorganism *A. niger* ANG18 was grown in Khanna medium with tannic acid as a carbon source, at 37 °C, for 24h and 120 rpm. The dialysate filtrate containing tannase was subjected to drying in the Spray Dryer SD05 equipment (Lab-Plant UK) in the presence of β -cyclodextrin, modified starch (Capsul®), lactose and maltodextrin as encapsulating materials. After the microencapsulation process, the enzymatic activities were preserved regardless of the type of encapsulating material, maintaining 38% of its initial activity in the presence of modified starch, 61.26% in maltodextrin, 73.88% in lactose and 115% in β -cyclodextrin. The highest drying performance was observed in the presence of modified starch (58%), followed by β -cyclodextrin (49%). The microparticles presented 4-13 μ m diameter, being visibly amorphous in the presence of β -cyclodextrin and rounded in modified starch and maltodextrin. The moisture content (<12.37) and the water activity (<0.51) were adequate to guarantee the quality and physical-chemical and microbiological stabilities of the dry products. Fourier transform infrared spectra confirmed the presence of tannase in dry microparticles. Additionally, the microencapsulated enzyme was stable for 1 year when kept at 4 °C and 28 °C, with 90% retention of the initial activity. In conclusion, the spray drying microencapsulation is an alternative for stabilization of the *A. niger* ANG18 tannase, favoring its possible industrial application.

Financing: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP (Processo nº 2016 / 11311-5) e Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (CNPq) (Processo nº 142389 / 2017-0).

Alternativa biotecnológica para la producción de quitosano

Isabella Vallejo¹, Juan David Jaramillo Orozco¹, Lina María Agudelo Escobar¹

(1) Universidad de Antioquia, Grupo de Biotransformación, Escuela de Microbiología, Calle 67 53 - 108 Laboratorio 5-226, Medellín, Colombia

La quitina y sus derivados, como el quitosano, presentan un gran potencial de uso en industrias como la agrícola, alimentaria, biomédica, farmacéutica, entre otras, debido a su versatilidad, biodegradabilidad, biocompatibilidad y nula toxicidad. Para la obtención de estos compuestos se han descrito procesos químicos, físicos y enzimáticos que representan un alto costo en términos energéticos, ambientales y económicos. En este estudio se propone un proceso fermentativo mediado por el hongo *Colletotrichum lindemuthianum* DSM 12250, productor de la enzima quitina desacetilasa (CICDA), como alternativa para la biotransformación de quitina fúngica. A partir de micelio seco, subproducto de la industria biotecnológica, se logró obtener quitina con un porcentaje de N-Acetilación del 63,6 %, estructuralmente similar a quitina comercial con base en análisis de espectrometría infrarroja por transformada de Fourier y Calorimetría Diferencial de Barrido. El compuesto obtenido se empleó como sustrato a transformar durante la fermentación en cultivo líquido mediada por el hongo ascomycota. Las unidades experimentales (UE) constaban de 100 mL de medio de cultivo líquido con 10 g/L extracto de malta, 4 g/L extracto de levadura, 4 g/L glucosa anhidra y un inóculo del 10 % con una concentración de $4,2 \times 10^6$ conidios/mL a un pH de 6,0 para los controles negativos y se adicionó 0,1 g/L de la quitina obtenida para el resto de las UE. Los cultivos se mantuvieron en suspensión a 125 rpm y una temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 18 días. El crecimiento microbiano se determinó mediante peso seco y la actividad enzimática de la CICDA se cuantificó empleando métodos validados en este estudio para la cuantificación de glucosamina por espectrofotometría visible y determinación de actividad quitina desacetilasa. El grado de desacetilación (DDA) y porcentaje de N-Acetilación se calcularon a partir de los espectros de FT-IR. Se encontró que la presencia del sustrato a transformar no genera inhibición en el crecimiento microbiano ni en la actividad de la CICDA, cuyo máximo fue de $0,910 \pm 0,002 \text{ U/mL}$, similar y superior en algunos casos al hallado por otros autores, (U se define como la cantidad de enzima necesaria para liberar $1 \text{ } \mu\text{mol}$ de acetato/min, bajo las condiciones experimentales). Durante la fermentación se alcanzó un porcentaje de desacetilación de quitina del 20,9 %, atribuido a la maquinaria enzimática del hongo que incluye, además de la CICDA, endo-quitinasas y N-acetil-hexosaminidasas, que contribuyen a la disminución de la complejidad del sustrato, obteniendo un quitosano con un DDA de 57,3 %, estructuralmente similar a quitosano comercial. Los resultados obtenidos permiten concluir que este proceso fermentativo representa una alternativa potencial para integrar diferentes etapas en la obtención de quitosano y otros derivados de quitina, tales como la hidrólisis y la desacetilación, y al mismo tiempo contribuye con una producción más limpia y eficiente.

Financing: Realizado con el apoyo del Grupo de Biotransformación, el cofinanciamiento del Centro de Investigación de la Escuela de Microbiología (CIEM) y el Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) de la Universidad de Antioquia.

Evaluación de glicerol de biodiesel como sustrato potencial para el crecimiento de *Saccharomyces boulardii* en reactor air-lift

Luis Esteban Vázquez Villalba¹, Karen Patricia Martínez¹, Juan Daniel Rivaldi¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Aplicaciones Industriales, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

El glicerol es el principal sub-producto del proceso de transesterificación de triglicéridos con alcohol para la obtención de biodiesel, representando el 10% del total del biocombustible producido. A pesar de su bajo valor de mercado, el glicerol crudo contiene impurezas que limitan su utilización directa en la industria química, requiriendo operaciones de elevado costo para su purificación. En este sentido, numerosas pequeñas industrias del sector acumulan o simplemente, descartan este producto directamente al ambiente, afectando el equilibrio ecológico de suelos y recursos hídricos. Una alternativa para su aprovechamiento consiste en su uso como sustrato alternativo para la obtención de biomasa de microorganismos y bioproductos de interés comercial, como probióticos. En este trabajo, glicerol crudo ($\approx 56\%$, p/p) fue sometido a pretratamiento con H_3PO_4 (85%, p/p) hasta pH 3 para remoción de jabones, ácidos grasos libres y otras impurezas, obteniendo glicerol de 91,4 % (p/p). En seguida, fue evaluada la capacidad de crecimiento de *Saccharomyces boulardii* en medio formulado con glicerol tratado. El inóculo fue preparado en frascos Erlenmeyer de 500 mL conteniendo 100 mL de solución de composición: glicerol de biodiesel tratado, 10 g/L; fosfato ácido de amonio, 2,0 g/L; fosfato ácido de potasio, 2,0 g/L, extracto de levadura, 3,0 g/L, sulfato de manganeso, 0,1 g/L, sulfato de magnesio heptahidratado, 0,5 g/L, cloruro de calcio dihidratado, 0,05 g/L a pH 5,0. El medio fue inoculado con 0,1 g/L de células e incubado a 30°C por 24 h bajo agitación orbital de 150 rpm. Fue evaluada la influencia de dos concentraciones de glicerol tratado (10 y 50 g/L) en la producción de biomasa utilizando reactor tipo air-lift de 500 mL de volumen útil, conteniendo solución basal, 0,1 mL de Penicilina G (2.400.000 UI) y 0,5 mL de antiespumante. El reactor fue inoculado con 0,1 g/L de células y el cultivo conducido a 30°C bajo flujo constante de aire estéril (membrana 0,22 μm) de 0,5 vvm. Alícuotas fueron obtenidas en intervalos regulares por un periodo máximo de 30 h. La máxima producción de biomasa (6,1 g/L) fue alcanzada a las 27 h, en medio conteniendo la menor concentración de glicerol, con un factor de conversión (YX/S) de 0,60 g biomasa/g glicerol y productividad volumétrica (QX) de 0,32 g/L.h. En el cultivo con 50 g/L de glicerol se observó menor rendimiento en biomasa, con valor YX/S tres veces inferior (0,20 g biomasa/g glicerol). Los resultados revelan que el glicerol de biodiesel representa un sustrato potencial para la producción de la levadura probiótica *Saccharomyces boulardii*. Palabras-claves: glicerol de biodiesel, *Saccharomyces boulardii*, biomasa, reactor air-lift

Financing: Agradecimiento al Programa Universitario de Becas para la Investigación Académica "Andrés Borgognon Montero".

EVALUACIÓN DE UN TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO PARA LA DETECCIÓN DE *Escherichia coli* EN ORINA.

Paula Da Cunda¹, Maria Moreno², Amy Monaco², Maria José Gonzalez Candia³, Paola Scavone³, **Luciana Robino**¹
 (1) Instituto de Higiene, Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, UdelaR, Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay
 (2) Instituto de Higiene, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina, UdelaR, Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay
 (3) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Microbiología, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

INTRODUCCIÓN: Las Infecciones del Tracto Urinario (ITU) son un problema frecuente. *Escherichia coli* es el principal agente etiológico en más del 80% de los casos. La técnica de oro para el diagnóstico de ITU es el urocultivo, pero su resultado demora al menos 48h y se requiere de un laboratorio de microbiología. Las tiras reactivas de orina (TRO) para la detección de nitritos y esterasas leucocitarias se utilizan como pruebas rápidas de tamizaje, pero su sensibilidad y especificidad es muy variable, lo cual conduce en muchos casos a diagnósticos incorrectos y al uso inapropiado de antimicrobianos. El objetivo de la presente propuesta es desarrollar un protocolo de test inmunocromatográfico (TI) rápido para la detección de *E. coli* en orina y evaluar su rendimiento en muestras de orina de pacientes con sospecha de ITU. **MÉTODOS:** Mediante la técnica de ELISA se evaluaron distintos anticuerpos (Ac) comerciales para la detección de *E. coli*. Se seleccionaron 2 anticuerpos: uno utilizado como Ac de captura (anti-*E. coli* serotipos O/K, ThermoFisher PA1-73029) y otro como Ac de detección (anti-LPS, UsBiological L2525). El Ac de captura se conjugó a Ulfa-Tag, mientras que el de detección se conjugó con nanopartículas de oro de 40 nm (Gold Conjugation Kit, ab154873). Los Ac de captura y de detección conjugados se incubaron durante 5 minutos con las muestras de orina y luego se corrieron las muestras en las tiras de nitrocelulosa de "Universal Lateral Flow Assay Kit" (abcam 270537) las cuales presentan en la línea del test anticuerpos anti-Ulfa-Tag. Se considera que un resultado es positivo cuando se visualiza una línea de color en la zona del test y otra en la del control. Se analizaron 163 muestras de orina por urocultivo, TI para *E. coli* y TRO. La TRO se consideró positiva para ITU si presentaba: leucocitos ≥ 2 cruces y/o nitritos positivos, ó leucocitos 1 cruz más proteínas o sangre en orina. **RESULTADOS:** De los 163 urocultivos, 78 presentaron un recuento significativo de *E. coli*, 6 *Klebsiella* spp, 1 *Staphylococcus saprophyticus* y 5 tuvieron desarrollo polimicrobiano. La sensibilidad del TI fue 74,3% (IC 63-82%), especificidad 82,1%, valor predictivo positivo (VPP) 81,69%, valor predictivo negativo (VPN) 75% y precisión diagnóstica 78%. El TI fue negativo en las muestras que desarrollaron *S. saprophyticus* y *Klebsiella*, y en 4 de los polimicrobianos. La muestra polimicrobiana que el TI dió positivo tenía predominio de colonias de *E. coli*. La sensibilidad de la TR (comparada con el urocultivo) fue 83%, especificidad 46,3%, VPP 60,2%, VPN 73,5%, precisión diagnóstica 64,4%. La utilización de TRO más TI para el tamizaje de ITU presentó una sensibilidad de 94,1%, especificidad 66,7%, VPP 72,7%, VPN 92,3% y precisión diagnóstica 80%. **CONCLUSIONES:** El TI para la detección de *E. coli* en orina es una técnica útil para el tamizaje de ITU, con menor sensibilidad que la TRO pero mejor especificidad y precisión diagnóstica. La utilización de ambas técnicas juntas (TRO y TI) permitiría realizar un diagnóstico rápido y más preciso de ITU, racionalizando la indicación de antibióticos empíricos.

Co-occurrence interaction network between extremophiles species from a copper mining tailing

Gabriel Galvez¹, Jaime Ortega¹, Lorena Pizarro¹, Mauricio Latorre^{1,2}

(1) Universidad de O'Higgins, Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 611, Rancagua, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, El Líbano 5524, Santiago, Chile

Extremophiles are organisms that can live and thrive in extreme environments. Copper mine tailings are an extreme environment derived from wastes from mining activities. These tailings present a high concentration of metals and extremely low pH, which are favorable conditions for finding unique acidophile and heavy metal resistant extremophile species. An interesting characteristic that these organisms have is that they form different communities, complementing each other to adapt to extreme conditions. Currently, the communities formed by these organisms have been poorly explored. In this work, samples from six sectors from the Cauquenes tailing were studied. In each sample, the pH and metal concentration were determined, and Principal Components Analysis (PCA) was carried out for comparing each sector. PCA results showed that 3 of the 6 sampled zones were very similar in pH and metal concentration, while the other 3 zones were drastically different, especially in their Mn and Ni concentrations. To research the interactions of the bacterial community in this tailing, total DNA extraction was carried and sequenced, and OTUs were assigned. These results showed an over-representation of Pseudomonaceae family in the 6 sampled zones. Additionally, bacteria from the Erwinaceae and Flavobacteriaceae families are also present. Interestingly, these results allowed us to identify bacterial species with biotechnological potentials, such as bioleaching of metals (*Erwinia* spp.) or alleviation of drought stress in crop growth (*Arthrobacter* spp.). Using the OTUs information as a template, a co-occurrence network model representing the putative interactions between species existing in this tailing was constructed. These results showed many interactions in low abundance OTUs belonging to the Enterobacterales and Pseudomonadales order, indicating the importance of these two classes for the stability of interactions in the microbiome. Finally, when identifying the drivers of the OTUs, we found one OTUs that exert the greatest influence, belonging to the Oxalobacteraceae and Flavobacteriaceae family. The importance of this OTU may be related to their ability to generate metabolites of great importance for the rest of the microbiome, interacting and indirectly regulating the other members. Overall, our results provide valuable information regarding the interactions and interdependencies of the bacterial communities growing in the Cauquenes tailing.

Financing: Center for Mathematical Modeling, Grant/Award Number: AFB170001; FONDECYT N° 1190742; Center for Genome Regulation FONDAP 15090007; CUECH; Gobierno Regional Chile.

Actividad anticancerígena in vitro del hongo endófito *Cladosporium* sp. aislado de *Pachycereus marginatus* (DC.) Britton & Ros

Jesica María Ramírez Villalobos¹, Cesar Iván Romo Sáenz¹, Karla Selene Morán Santibañez¹, Patricia Tamez Guerra¹, Ricardo Romero Arguelles¹, Reyes Tamez Guerra¹, Cristina Rodríguez Padilla¹, Ricardo Gomez Flores¹
(1) Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pedro de Alba S/N, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, México

Los metabolitos secundarios de los hongos endófitos han sido reconocidos como fuentes potenciales de compuestos anticancerígenos entre los que se encuentran el taxol, camptotecina, vinblastina, vincristina entre otros. Sin embargo, solo se han cultivado y estudiado menos del 16% de las especies de hongos descritas. Entre los hongos endófitos, el género *Cladosporium* ha demostrado su capacidad para la producción de compuestos anticancerígenos como el taxol, fusarubina, anidrofusarubina y cladosporona A con actividad citotóxica contra diferentes tipos de cáncer. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad citotóxica del extracto metanólico de *Cladosporium* sp. PME-H008 endófito de *Pachycereus marginatus* (DC.) Britton & Ros en contra de las líneas tumorales L5178Y-R, HT-29 y MCF-7 y no tumorales MA-104 y PBMC. El hongo endófito *Cladosporium* sp. PME-H008 fue aislado de tallos de *P. marginatus* e identificado molecularmente a partir de la secuenciación de la región del espaciador del transcrito interno del ADN ribosomal (ITS). Se realizó la extracción de los metabolitos secundarios a partir de la maceración del micelio del hongo en metanol, el cual se obtuvo a partir de cultivos líquidos. El solvente fue removido con un rotavapor, para después reconstituir el extracto con Dimetil sulfoxido (DMSO). Las líneas celulares utilizadas en este estudio fueron L5178Y-R (linfoma), HT-29 (adenocarcinoma colorrectal humano), MCF-7 (cáncer de mama humano), MA-104 (células epiteliales de riñón de mono) y células mononucleares de sangre periférica (PBMCs). El extracto fue añadido a las células a diferentes concentraciones (250, 125, 62.5, 31.25 µg/mL) incubándose por 48 h a 37 °C, con 5% de CO₂. La citotoxicidad fue evaluada mediante el ensayo colorimétrico MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromide). Como control positivo se utilizó Vincristina y como negativo DMSO al 1%. El valor de IC₅₀ y el índice de selectividad (SI) fueron calculados. El extracto metanólico de *Cladosporium* sp. PME-H008 presentó la mayor actividad a la concentración de 250 µg/mL en contra de la línea celular L5178Y-R alcanzando porcentajes de citotoxicidad de 94.6 %, seguido por MCF-7 con 47.7%. Los valores IC₅₀ que se obtuvieron para las líneas tumorales L5178Y-R, HT-29 y MCF-7 fueron de 101, 301.1 y 337.5 µg/mL respectivamente. El extracto presentó menor citotoxicidad en contra de la línea no tumoral PBMC con IC₅₀ de 298.8 µg/mL, mientras que para las MA-104 fue de 250.2 µg/mL. El índice de selectividad más alto se obtuvo con la línea L5178Y-R con 2.4 y 2.9 cuando se comparó contra la línea sana MA-104 y PBMC respectivamente. Los resultados demuestran el potencial del hongo *Cladosporium* sp. PME-H008 endófito de *P. marginatus* para la producción de compuestos con actividad citotóxica selectivos para el tratamiento del cáncer.

Financing: Este estudio fue financiado por la beca CN1235-20 del Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica de la UANL.

Síntesis enzimática de glicósidos de ácido rosmarínico y EGCG utilizando una variante glicosintasa de una endoxilanasas del hongo *T. amestolkiae*

Ana Pozo-Rodríguez¹, Juan A. Méndez-Líter¹, Laura I. de Eugenio¹, Alicia Prieto¹, Jorge Barriuso¹, Andrés González-Santana², Francisco Javier Cañada¹, María Jesús Martínez¹

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Ramiro de Maeztu, 9, Madrid, España

(2) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Química Orgánica General, Juan de la Cierva 3, Madrid, España

La biomasa vegetal es uno de los recursos más abundantes del planeta y, aunque mucha de esta biomasa se utiliza para la alimentación humana y la obtención de compuestos saludables, en el actual modelo productivo de economía circular es imprescindible utilizar también los abundantes residuos que se generan en estos procesos para tratar de valorizar todo su contenido. En este contexto, las denominadas “biorrefinerías de la lignocelulosa” tratan de establecer un esquema sostenible de utilización de la biomasa vegetal, análogo al de las refinerías petroquímicas, pero produciendo productos químicos, combustibles y energía a partir de recursos renovables. En este contexto, en nuestro grupo se están estudiando las celulasas y hemicelulasas del hongo *Talaromyces amestolkiae*, un ascomiceto aislado de residuos de cereales. Este hongo produce niveles elevados de todas las enzimas implicadas en la degradación de la celulosa y la hemicelulosa, que nosotros hemos aplicado principalmente a la producción enzimática de bioetanol de segunda generación y de productos de valor añadido a partir de residuos agrícolas. Sin embargo, estas enzimas, que son glicosil hidrolasas, son capaces de hidrolizar enlaces glicosídicos, y tienen gran potencial para sacarificar la celulosa y hemicelulosa. Sin embargo, también pueden llevar a cabo reacciones de transglicosilación, dependiendo de las condiciones de reacción, generando enlaces entre residuos glicosídicos y distintas moléculas aceptoras. Mediante este tipo de reacciones una molécula de xilosa es transferida desde un sustrato donador a un aceptor al que se une por un grupo hidroxilo. La endoxilanasas XynSOS, encontrada en el genoma de *T. amestolkiae*, expresada en la levadura *Pichia pastoris*, era capaz de llevar a cabo la transxilosilación de algunos compuestos con propiedades antioxidantes, mejorando su solubilidad y biodisponibilidad. Sin embargo, el rendimiento de estas reacciones suele ser bajo, ya que los glicósidos terminan por ser hidrolizados, porque la enzima mantiene intacta tanto su capacidad de hidrólisis como de síntesis. Para solventar este problema, mediante mutagénesis dirigida, se pueden modificar algunos de los aminoácidos de su centro activo, obteniendo variantes tioglicoligasas o glicosintasas, en las que se elimina o reduce drásticamente la actividad hidrolítica de la enzima. En este trabajo se comprobó que al cambiar el aminoácido nucleófilo E236 de la enzima endoxilanasas XynSOS de *T. amestolkiae*, expresada en *P. pastoris*, por uno neutro (E236A), se obtenía una variante xilosintasa que tenía anulada su capacidad hidrolítica y era mucho más activa, que la enzima fúngica glicosilando distintas moléculas aceptoras, utilizando xilobiosafúor como donador. Los resultados indican que esta variante xilosintasa puede glicosilar una gran variedad de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes, que se detectaron inicialmente por cromatografía en capa fina y se han identificado y caracterizado por espectrometría de masas y RMN, respectivamente. Destacar especialmente la glicosilación de ácido rosmarínico y galato de epigallocatequina (EGCG), en los que se ha descrito su capacidad para mejorar la actividad cerebral, ayudar a la pérdida de grasa en enfermedades de obesidad, proteger contra el cáncer otras enfermedades o contribuir a reducir el riesgo de enfermedad cardíaca, lo que hace prever que sus xilósidos puedan tener distintas aplicaciones.

Financing: Los autores agradecen la financiación recibida por el Programa RETOPROSOST-2-CM, P2018/EMT-4459 (Comunidad de Madrid) y los Proyectos GLYSUS RTI2018-093683-B-I00 (MICIU/AEI/FEDER) y BioSFerA H2020-LC-SC3-2019-NZE-RES-CC-884409 (EU).

La variación en los parámetros de crecimiento de cepas *Saccharomyces cerevisiae* en respuesta a condiciones de estrés presentes durante el ciclo fenológico de la vid evidencia una aclimatación al nicho de viñedo

Magalí Lucía González¹, Valeria Chimeno², Eva Valero³, Francisco Noé Arroyo López⁴, Antonio Garrido-Fernández⁴, Francisco Rodríguez-Gómez⁴, **María Elena Sturm**², María Cecilia Rojo¹, Mariana Combina^{1,2}, Laura Analía Mercado^{2,5}

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Av. Rivadavia 1917 C1033AAJ, Buenos Aires, Argentina

(2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Mendoza (EEA Mza INTA), Laboratorio de Microbiología Enológica, San Martín 3853 (5507), Luján de Cuyo, Mendoza,, Argentina

(3) Universidad Pablo de Olavide, Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Edificio 47, Ctra. Utrera, km 1 (41013), Sevilla, España

(4) Instituto de la Grasa (IG), Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Universidad Pablo de Olavide,, Departamento de Biotecnología de Alimentos, Edificio 46, Ctra. Utrera, km 1 (41013), Sevilla, España

(5) Universidad Nacional de Cuyo, Alte Brown 500, Chacras de Coria (5505), Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina

La producción de vid y la elaboración de vino constituyen dos actividades de amplia tradición e impacto económico en Mendoza, Argentina. La Zona Alta del Río Mendoza (ZARM) es la principal región vitícola donde se cultiva el Malbec, vino emblemático de Argentina. *Saccharomyces cerevisiae* es la principal responsable de la fermentación alcohólica del vino y en general, se acepta que el viñedo es el hábitat natural de las levaduras enológicas y que las uvas son la principal fuente de ellas. No obstante, la vid es una especie de hoja caduca y por ello necesita una secuencia específica de condiciones ambientales para renovar todos sus tejidos a través de un ciclo de crecimiento anual. Entonces, ¿qué sucede con las poblaciones de *S. cerevisiae* en los viñedos durante el ciclo de crecimiento anual de la vid? Esta pregunta plantea la posibilidad de que *S. cerevisiae* esté adaptada a hábitats ecológicos del viñedo distintos de las uvas, y que estos reservorios puedan constituir un refugio para las levaduras cuando la fruta no está disponible. Asimismo, dado que la tolerancia o resistencia al estrés ambiental tiene componentes tanto genéticos como ecológicos, es necesario estudiar el impacto de factores relacionados con las condiciones estacionales del ciclo anual de la vid para confirmar la adaptación de las cepas de *S. cerevisiae* a los nichos ecológicos del viñedo. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de los cambios estacionales del ciclo anual de la vid sobre el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. Se consideraron 10 condiciones de estrés subletal que reflejaran los cambios ambientales y del sustrato que se presentan en el viñedo. Se evaluó el efecto de: temperatura (7-40 °C), pH (2.5-8.0), concentración de glucosa (3-300 g. L⁻¹), concentración de nitrógeno (0.008-8 g. L⁻¹) y presencia de cobre (Cu²⁺, 24 mg. L⁻¹) sobre la cinética de crecimiento de un conjunto representativo de 30 cepas de *S. cerevisiae*, previamente aisladas de diferentes nichos ecológicos de un viñedo Malbec durante un ciclo completo de crecimiento de la vid. Los parámetros de crecimiento, fase de latencia, velocidad máxima y máximo asintótico de crecimiento, se estimaron a partir de las curvas de densidad óptica obtenidas con el espectrofotómetro Bioscreen C. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA multivariado (prueba de comparación post-hoc Fisher-LSD) y también se aplicó el Análisis Procrustes Generalizado para evaluar la interacción cepa-condiciones de crecimiento. Los resultados mostraron que el conjunto de cepas de *S. cerevisiae* caracterizadas fueron capaces de crecer cuando fueron sometidas a los tratamientos que simulaban los cambios ambientales estacionales en el ecosistema del viñedo. La limitación extrema de glucosa, la presencia de cobre y la baja temperatura fueron los factores con mayor impacto en el crecimiento de *S. cerevisiae*. Se verificaron respuestas de crecimiento homogéneas o variables según el estresor evaluado. Sin embargo, 10 cepas altamente aisladas en el viñedo fueron menos afectadas por todos los factores ensayados, lo que sugiere su aclimatación y capacidad para sobrevivir en las condiciones cambiantes del ciclo anual de la vid.

MICROBIOLOGÍA FARMACÉUTICA

Uso de *Cinnamomun zeylanicum* en *Cándida albicans*

Juliana Hatwig¹, Elba Ramos¹

(1) Universidad del Norte, Itapua, Química, Avda. Irrazabal, Encarnación, Paraguay

La *Cándida albicans* es el agente patógeno primario en la patogenia de la Candidiasis oral y vaginal; siendo una enfermedad de distribución mundial, estableciéndose en personas de cualquier sexo, de todas las edades, desde lactantes hasta adultos mayores. Presentándose así alternativas naturales a través del uso de plantas, con propiedades antifúngicas. El trabajo constituyó una investigación de tipo explorativo, descriptivo, de diseño anidado, corte transversal, enfoque mixto y modelo experimental llevado a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de la Universidad del Norte, estableciéndose como objetivo general "Describir la actividad antimicótica in vitro del Extracto de *Cinnamomun zeylanicum*" "Canela" ante la *Cándida albicans* extraídas de la ciudad de María Auxiliadora distrito de Tomás Romero Pereira". El extracto del *Cinnamomun zeylanicum* fue obtenido por maceración hidroalcohólica, de cocción y soxhlet. La actividad antimicótica del extracto fue evaluada según el método kirby Bauer (difusión de disco), utilizando como instrumento de recolección de datos, encuesta cerrada y entrevista abierta a profesionales de la salud durante los meses de agosto a octubre y dio como resultado que el extracto de la corteza del *Cinnamomun zeylanicum* presenta propiedades inhibitorias en ensayos in vitro y mayor efecto antifúngico sobre *Candida albicans* con el extracto obtenido con el extractor soxhlet. Palabras claves: *Cándida albicans*, efecto antifúngico, extracto de *Cinnamomun zeylanicum*.

Financing: Recursos propios

Avaliação do mecanismo de ação da di-hidrojasmona e seu efeito na morfogênese de cepas de *Candida* spp.

Luanna Lima¹, Mariana Fonseca¹, Larissa Silva¹, Edeltrudes Lima¹, Josean Fachine¹, Felipe Guerra¹

(1) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Farmácia, João Pessoa-PB, Brasil

As candidíases são infecções que têm como agente etiológico leveduras do gênero *Candida*, e são responsáveis por 80% dos casos de infecções fúngicas sistêmicas. Suas manifestações clínicas podem variar desde contaminação na mucosa oral e vaginal, até o desenvolvimento da forma sistêmica, via hematogênica ou linfática. Além disso, atualmente várias micoses invasivas têm sido documentadas em associação a Covid-19, dentre elas a candidemia. Alguns fatores de risco são o uso de antibióticos de amplo espectro, uso de cateter venoso, insuficiência renal, uso de medicamentos imunossupressores, dentre outros, visto que pacientes mais graves apresentam algumas dessas condições. Como opções no tratamento estão os azólicos, como fluconazol, os derivados poliênicos, como a nistatina e anfotericina B, e as equinocandinas, como a caspofungina. O custo do tratamento, os efeitos adversos deste, bem como o aparecimento de cepas multirresistentes, têm sido uma problemática dessas enfermidades. Logo, a busca por novas alternativas de maior eficácia e segurança têm crescido nos últimos anos, e o uso de plantas medicinais e seus derivados vem ganhando destaque. Dentre os produtos derivados, destacam-se os óleos essenciais e seus fitoconstituintes, como os terpenos, um dos grupos mais abundantes dentre os metabólitos secundários. Após triagem de alguns terpenos, foi escolhida a di-hidrojasmona para testes mais específicos, pois esta sinalizou atividade satisfatória frente a cepas de *Candida* spp. Para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) foram testadas 7 cepas de *Candida* spp., incluindo *C. albicans* e *C. parapsilosis*, e observada uma CIM de 256 µg/mL. Ao realizar os testes de mecanismo de ação com as mesmas cepas, a concentração na presença do sorbitol (que avalia a atividade da substância teste sobre a parede celular fúngica) foi igual à CIM. Já na presença do ergosterol (que avalia a atividade sobre a membrana plasmática) essa concentração foi o dobro da CIM. Foi realizada a micromorfologia para analisar a morfogênese de uma das cepas de *C. albicans* testadas sob o efeito da di-hidrojasmona. Observando em microscopia *C. albicans* ATCC 76485, na ausência do terpeno, demonstrou micromorfologia característica, com desenvolvimento de extensas pseudo-hifas, em média 20 por campo visual, além da presença dos clamidioconídios. Já com a di-hidrojasmona observou-se uma diminuição da frequência e comprimento das pseudo-hifas, em média 10 pseudo-hifas por campo, sem variações nas morfologias de blastoconídios. Dessa forma, observa-se que o terpeno testado apresenta promissora atividade sobre cepas de *Candida* spp., principalmente sobre a membrana plasmática fúngica. Além disso, a redução da extensão das pseudo-hifas em *C. albicans* ATCC 76485 pelo di-hidrojasmona, o destaca como potente agente anti-virulência de *Candida*.

Financing: Financiamento: CNPQ

Evaluation of antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa* extracts

Árina Colombane Câmara^{1,2}, Luciana Matias Ferreira¹, Luana Lima Vieira¹, Juliane Vismari de Oliveira^{1,2}, Isabela Succi Castro Masiero², Guilherme Simões Pedro dos Santos², Fernando Luiz Affonso Fonseca^{2,3}, Luiz Carlos Martins das Neves⁴, Marina Ishii⁵, Flávia de Sousa Gehrke^{1,2}

(1) Instituto de Assistência Médica ao Servidor Público Estadual (IAMSPE), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rua Pedro de Toledo, 1800 - Vila Clementino, São Paulo, São Paulo, Brasil

(2) Centro Universitário Faculdade de Medicina do ABC (CU-FABC), Departamento de Patologia, Av. Lauro Gomes, 2000 - Vila Sacadura Cabral, Santo André, São Paulo, Brasil

(3) Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Farmácia, R. Prof. Artur Riedel, 275 - Jd. Eldorado, Diadema, São Paulo, Brasil

(4) Universidade Paulista (UNIP), Instituto de Ciências da Saúde, R. Dr. Bacelar, 1212 - Vila Clementino, São Paulo, São Paulo, Brasil

(5) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP), Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Butantã, São Paulo, São Paulo, Brasil

Introduction: The spread of multidrug-resistant bacteria has become a growing problem in therapy and public health. In this sense, medicinal plants can be a good resource in the development of new antibiotics with mechanisms of action not yet known. *Hibiscus sabdariffa* is a perennial shrub of the Plantae kingdom, of the order Malvales, Malvaceae family, widely consumed around the world as food and as a medicinal plant. **Objectives:** The goal is to evaluate the antimicrobial activity of *H. sabdariffa* for strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Bacillus atrophaeus*. **Material and Methods:** The samples of *H. sabdariffa* were submitted to extraction with distilled water (1:10 m/v for 24 hours) and 98°GL ethanol (1:10 m/v for 7 days). The antimicrobial activity of these extracts was evaluated by the inhibition halo test with *S. aureus* ATCC 6538 and *E. coli* ATCC 25922. To determine the actual concentration of the aqueous and ethanolic extract in which the antimicrobial effect occurs, Minimum Inhibition Concentration (MIC) tests were performed with *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, and *B. atrophaeus* ATCC 9372. **Results:** The aqueous extract showed inhibition halo at a concentration of 219.6 mg/mL for gram-positive and gram-negative bacteria, while the ethanol extract showed inhibition halo at a concentration of 23.25 mg/mL for *E. coli* and 46.5 mg/mL for *S. aureus*. The aqueous extract presented MIC= 20.01 mg/mL with bactericidal effect for gram-positive and negative bacteria. The ethanol extract presented MIC= 4.24 mg/mL for *E. coli* and MIC= 2.91 mg/mL for *B. atrophaeus*. **Conclusions:** Thus, it was found that the aqueous and ethanolic extracts of *H. sabdariffa* present antimicrobial activity for gram-positive, gram-negative, and sporulate bacteria. **Keywords:** Aqueous Extract, Ethanolextract, Antibacterial, Medicinal Plants, *Hibiscus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus atrophaeus*

Financing: National Council for Scientific and Technological Development – CNPq

THERMODYNAMIC STUDIES OF A ASPARAGINASE FROM *Fusarium proliferatum*

Paula Souza¹, Samuel Cardoso¹, Kellen Cruvinel¹, Adalberto Pessoa Júnior², Pérola Magalhães¹

(1) University of Brasília, Department of Pharmacy, Faculty of Health Science, UnB-Brasília, DF, 70910-900, Brasília, Brazil

(2) University of São Paulo, Department of Biochemical-Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Butantã, São Paulo - SP, 05508-000, São Paulo, Brazil

L-asparaginase have been used as chemotherapeutic agents for the treatment of acute lymphoblastic leukemia and other hematopoietic malignancies since the tumor cells cannot synthesize sufficient L-asparagine and are thus killed by deprivation of this amino acid. The enzyme is also widely applied in the food industry since treatment with L-asparaginase prior to cooking significantly reduces the formation of acrylamide. Thermostability is an important aspect to determine the applicability of L-asparaginase for industrial and medical application. However, the most of reported microbial L-asparaginases are not thermostable, even the industrialized L-asparaginases from *E. coli* and *E. chrysanthemi*, have low thermostability and a reduced half-life in the blood. Therefore, it is important to find new sources of novel thermostable L-asparaginases with high activity over a wide range of temperatures. The kinetics of a thermostable L-asparaginase produced by a *Fusarium proliferatum* strain was investigated at different pH and temperatures. The enzyme exhibited maximal activity at pH 7.0 and 45°C, and its irreversible deactivation was well described by first-order kinetics. The half-life ($t_{1/2}$) is an important parameter in many industrial applications, because the higher the half-life at the specific temperature the higher will be the thermostability of the enzyme. The values of k_d and $t_{1/2}$ obtained at 40 °C was 0.027 h⁻¹ and 25.57 h. The results of activity collected at different temperatures were then used to estimate, the activation energy of the hydrolysis reaction ($E^* = 71.5$ kJ/mol) and the standard enthalpy variation of reversible enzyme unfolding ($\Delta H^{\circ}U = 130$ kJ/mol). The results of residual activity tests carried out in the temperature range 37-50 °C allowed estimating the activation energy ($E^*d = 348.35$ kJ/mol), enthalpy ($345.67 \leq \Delta H^{\circ}d \leq 345.75$ kJ/mol), entropy ($759.98 \leq \Delta S^*d \leq 760.69$ kJ/mol K) and Gibbs free energy ($100.08 \leq \Delta G^*d \leq 107.54$ kJ/mol) of the enzyme irreversible denaturation. The L-asparaginase produced appear to be more thermostable than at least some of the other reported enzymes. These thermodynamic parameters suggest that this asparaginase is thermostable and could be important for pharmaceutical and industrial applications. To the best of our knowledge, this is the first report on thermodynamic parameters of an asparaginase produced by *F. proliferatum*.

Financing: Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel Federal District Research Support Foundation

MICROBIOLOGÍA EN ALIMENTOS

SYNERGIC EFFECT OF BLACK PEPPER ESSENTIAL OIL ON THE INHIBITION OF FOODBORNE PATHOGENS

Jaqueline Milagres de Almeida¹, Victoria Vilaça Martins Alencar de Souza¹, Anderson Clayton da Silva Abreu¹, Nathalia Cristina Cirone Silva¹

(1) State University of Campinas (UNICAMP), Department of Food Science, Faculty of Food Engineering, Rua Doutor Shigeo Mori, Campinas, Brasil

Processed foods usually need preservative additives to ensure that they are safe for consumption and do not cause illnesses to humans, the so-called Foodborne Diseases. These diseases are mainly caused by pathogenic microorganisms that may be contaminating food. Natural preservatives are an alternative to chemical preservatives, and among the essential oils (EO's) have stood out in inhibiting the multiplication of foodborne pathogenic microorganisms. The OE's can exert their inhibitory effect alone or have this action potentiated when combined, thus characterizing a synergistic effect. The objective of this work was to test the synergistic action of black pepper (*Piper nigrum*) essential oil in combination with EO's of oregano (*Origanum vulgare*), thyme (*Thymus vulgaris*), and clove (*Eugenia caryophyllus*) against *Listeria monocytogenes* ATCC7644 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of each EO was determined using 96-well microplates through the technique of microdilution in broth starting from a concentration of 10% of EO, followed by serial dilution in a ratio of 2 and inoculation of a bacterial suspension containing approximately 1×10^3 UFC.mL⁻¹ of each bacterium, where the MIC was identified through the addition of 50 μ L of resazurin microbial growth indicator, in which the well with the lowest concentration that does not present microbial growth represents the MIC. The verification of the potential synergistic effect between the oils was carried out from binary combinations between the EO of black pepper with EO of oregano, thyme, and clove, following the same methodology, starting from a concentration to half of the MIC presented by each OE. The result is determined through the FIC index (Fractional Inhibitory Concentration), which considers the MIC's of the oils alone and in combination. For *Listeria monocytogenes* ATCC7644, the OE's of oregano, thyme, and clove presented MIC respectively of 4.78; 3.42 and 1.361 mg.mL⁻¹ and *Staphylococcus aureus* ATCC25923 suggested 1.675; 4.916 and 0.1995 mg.mL⁻¹ respectively. The EO of black pepper alone did not show an inhibitory effect against pathogens or in the highest concentration tested (10%). Therefore, a concentration equivalent to 10% (87.7 mg.mL⁻¹) was used for the potential synergistic test. The tested binary combinations showed a synergistic effect in the inhibition of *L. monocytogenes* ATCC7644 and *S. aureus* ATCC25923, reducing the MIC of the EO's up to 6 times compared to their MIC alone. From the results, we can conclude that the black pepper EO did not show an inhibitory effect against the bacteria tested at the indicated concentration. However, when combined with other EO's, its components act synergistically, decreasing the necessary concentration to exert the antimicrobial effect. Thus, the use of combined EO's proves to be effective against the pathogens in question and can promote the preservation of food, making it suitable for consumption with preservatives of natural origin.

Financing: CAPES, CNPq

Características fenotípicas y genotípicas de cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (STEC) recuperadas de media canales bovinas en Uruguay

Paula Mussio¹, Santiago Ultra¹, Lucía Trujillo², Sylvia Vázquez³, Armando Navarro⁴, Juan Manuel Burghi⁵, María de la Paz Xavier⁵, Carlos Méndez³, Fernando Massa⁶, Pablo Rovira⁷, Ana María Maquieira¹, Inés Martínez⁸, Santiago Luzardo⁹, Gustavo Varela³

(1) Laboratorio Tecnológico del Uruguay, Departamento de Microbiología, Avenida Italia 6201. CP 11500, Montevideo, Uruguay

(2) Universidad de la República, Acuicultura y Patología de Organismos Acuáticos, Veterinaria, Alberto Lasplaces 1620-11600, Montevideo, Uruguay

(3) Universidad de la República, Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Alfredo Navaro 3051, MONTEVIDEO, Uruguay

(4) Universidad Autónoma de México, Salud Pública, Medicina, Av Universidad 3000 Ciudad Universitaria Coyoacán 04510, DF México, México

(5) Instituto Nacional de Carnes, Gerencia de Contralor, Rincón 545, 11000, MONTEVIDEO, Uruguay

(6) Universidad de la República, Instituto de Estadística, Facultad de Ciencias Económicas y de Administración, Eduardo Acevedo 1139 / 11400, MONTEVIDEO, Uruguay

(7) Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria / INIA Treinta y Tres, Ruta 8 km. 281, TREINTA Y TRES, Uruguay

(8) LATITUD, Fundación LATU, Av. Italia 6201, 11500, MONTEVIDEO, Uruguay

(9) Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria / INIA Tacuarembó, Ruta 5 km. 386, TACUAREMBÓ, Uruguay

Introducción Las cepas STEC incluyen un conjunto de serogrupos productores de al menos un tipo de citotoxina llamada toxina Shiga. **Objetivo** Conocer el serotipo, perfil de virulencia y patrón de resistencia a antibióticos de cepas STEC. **Metodología** Se analizaron 49 cepas STEC mediante serotipificación; PCR para *stx1*, *stx2*, *eae*, *aggR*, *hcpA*, *ih*, *lpfA*, *F9*, *espJ*; identificación bioquímica y ensayos de susceptibilidad utilizando Microscan y disco-difusión. Se realizó WGS sobre 33 de los aislamientos, que permitió confirmar serogrupo, conocer el cgMLST, la presencia de otros genes de virulencia, las variantes de *stx* y realizar análisis filogenéticos. **Resultados** Todas fueron *E. coli*. La distribución de serogrupos fue: O6(1), O8(2), O10(1), O15(2), O20(2), O22 (6), O27(1), O39(1), O43(1), O74(1), O81(1), O87(1), O105(1), O110(1), O113(1), O120(1), O130(7), O146(1), O149(1), O154(1), O156(2), O157(1), O159(1), O168(1), O171(1), O174(4), O178(1), O185(3) y O-(1). 8 serogrupos representaron más del 50% de los aislamientos: O8, O15, O20, O156, O185, O174, O22 y O130. La única STEC *eae* positiva fue la O157:H7. Ninguna dio positivo para *aggR*. 10 portaron *stx1*, 25 *stx2* y 14 *stx1/2*. La distribución de las variantes para *stx* fue: 1a(12), 1d(3), 2a(10), 2b(2), 2c(6) y 2d(7). Al menos 16 fueron positivas para *hcpA*, 21 para *iha* y 36 para *F9*. En las cepas analizadas por WGS se encontraron 32 aislados con *lpfA* y 11 con *ehxA*. Ninguna cepa mostró resistencia para los antibióticos ensayados. **Discusión** Se detectó la presencia de una amplia variedad de serogrupos, algunos relacionados a SUH en Argentina (O174, O22) y cepas O22:H8 asociadas con menor frecuencia de portación de O157:H7 en el ganado. Se observan fuertes asociaciones genéticas entre las cepas de mismo serogrupo. Se destaca la alta diversidad de serogrupos identificados, la gran mayoría negativos para *eae* y *aggR*, portadores de otros genes de virulencia accesorios, y ninguno resistente. De todos los serogrupos recuperados, solo O157 fue aislado en un SUH local. Se necesitan más trabajos de recuperación y caracterización de STEC en seres humanos y continuar con otros estudios de laboratorio y bioinformáticos para profundizar en la evaluación del potencial patogénico de los serogrupos recuperados.

Financing: ANII Agencia Nacional de Investigación e Innovación - Fondo Sectorial Innovagro 2018

Dinámica poblacional de Bacterias del Ácido Láctico (BAL) y levaduras durante el proceso de fermentación de café en el norte de Colombia y sus posibles aplicaciones biotecnológicas

Rosmery Cruz O'Byrne¹, Nelson Piraneque Gambasica¹, Sonia Aguirre Forero¹

(1) Universidad del Magdalena, Grupo de Investigación Suelo, Ambiente y Sociedad (GISAS), Ingeniería, Carrera 32 no. 22-08, Santa Marta, Colombia

En los procesos de fermentación de café, la acción de los microorganismos juega un rol esencial al tener gran influencia en la composición de los granos y por consiguiente en los atributos sensoriales de la bebida producida. Las Bacterias del Ácido Láctico (BAL) y las levaduras han sido reconocidas como un componente integral en el proceso debido a que en su metabolismo generan importantes precursores de aroma, sin embargo, hay una carencia de estudios microbiológicos aplicados a la fermentación de café al norte de Colombia; zona reconocida por generar café de calidad. En la presente investigación, se estableció la diversidad de bacterias y hongos presentes en muestras de café en fermentación a las 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas del proceso en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM) a través del secuenciamiento de alto rendimiento de los genes 16S e ITS usando la plataforma MiSeq de Illumina. Las regiones hipervariables V3-V4 del gen bacteriano rRNA 16S fueron amplificadas usando los cebadores (primers) Bakt_341F y Bakt_805R, mientras que la región intergénica ribosomal (ITS) del rRNA eucariota (hongos) fue amplificada usando los cebadores ITS3F e ITS4R. El programa de amplificación consistió en un 1 ciclo de desnaturalización a 95°C por 3 min, 25 ciclos de 95°C por 30 s, 55°C por 30 s, 72°C por 30 s, seguido de una extensión final a 72°C por 5 min y finalmente almacenado a 4°C. Adicionalmente, fueron tomadas muestras de café fermentado por 18, 24, 30 y 36 h para continuar con su proceso de beneficio y establecer la calidad sensorial de la bebida producida mediante el protocolo de catación de la SCA. De las secuencias crudas generadas, se asignaron OTUs a nivel de género alrededor de 21.000 para 16S y de 41.000 para ITS. El análisis de rarefacción mostró un valor de cobertura >99% en el caso de las bacterias y >98% en el de hongos, indicando que el muestreo fue suficiente y presenta las características apropiadas para estudiar la diversidad en las muestras de interés. La asignación taxonómica de las secuencias genéticas mostró una alta diversidad microbiana comprendida por 695 géneros bacterianos y 156 fúngicos, de los cuales 21 pertenecen al grupo de las BAL y 29 al de levaduras. La comunidad de BAL está liderada por el género *Leuconostoc*, seguida de *Lactobacillus* y *Weissella* mientras que, en las levaduras, el género *Kazachstania* es el más abundante, seguido de *Hanseniaspora* y *Wickerhamomyces*. Las bebidas producidas se clasificaron como cafés especiales, no obstante, la bebida preparada con café fermentado por 36 horas obtuvo el mayor puntaje (85,25) clasificándola como café especial excelente con notas dulces (crema, miel y caramelo), florales (rosas), frutales (frutos secos, maracuyá) y achocolatadas. Los hallazgos obtenidos sirven como insumo para el establecimiento de cultivos iniciadores en el procesamiento del café, que garanticen a los caficultores la generación de bebidas de alta calidad, la estandarización de los procesos, la reducción de las pérdidas económicas y un valor agregado de los productos para un mejor aprovechamiento del mercado.

Financing: Universidad del Magdalena, Santa Marta - Colombia (código VIN2020018).

Análisis genómico del resistoma y viruloma en *E. coli* de origen alimentario y su potencial transferencia horizontal

Maria Guadalupe Balbuena-Alonso¹, Gerardo Cortés-Cortés¹, Manel Camps², Jay Kim², Patricia Lozano-Zarain¹, Margarita Ma. de la Paz Arenas-Hernandez¹, Rosa del Carmen Rocha-Gracia¹

(1) Benemerita Universidad Autónoma de Puebla, Posgrado en Microbiología, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas. ICUAP, Diagonal Río Papagayo y Calle Boulevard 22 Sur, Av San Claudio, Cd Universitaria., Puebla, México

(2) University of California at Santa Cruz, Department of Microbiology and Environmental Toxicology., Santa Cruz, CA 95064, Estados Unidos

Introducción: Los alimentos se consideran reservorios de microorganismos patógenos; una de las principales bacterias asociadas a enfermedades transmitidas por alimentos es *Escherichia coli*, que puede provocar enfermedades intestinales o extraintestinales graves. Esta bacteria tiene un papel importante en la adquisición y transmisión de genes de virulencia y resistencia a antibióticos. La transmisión es facilitada por la presencia de elementos genéticos móviles, siendo los plásmidos uno de los más eficientes. Por lo cual, la transmisión de *E. coli* virulenta y/o multiresistente entre humanos y animales a través de la cadena alimentaria es de gran preocupación. **Objetivo:** Analizar en genomas de *E. coli* de origen alimentario el contenido de genes de virulencia y resistencia a antibióticos, así como la presencia y características de plásmidos relacionados con su movilización. **Material y métodos:** Se analizaron in silico 77 genomas completos de *E. coli* de origen alimentario depositados en el GenBank hasta el 31 de diciembre de 2020. El análisis se realizó empleando diferentes herramientas bioinformáticas de libre acceso. **Resultados:** Se identificaron 7 filogrupos, 49 secuenciotipos (ST) y 53 serotipos, siendo los más frecuentes el filogrupo A, ST11 y O157:H7, respectivamente. Dentro de los 4 patotipos identificados, *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) fue el más habitual (27%). Todos los genomas mostraron al menos un gen asociado a la resistencia a antibióticos, con un máximo 21 genes. Se identificaron 415 genes de resistencia de 79 tipos diferentes; los de mayor prevalencia siendo los asociados con la resistencia a la familia de los aminoglucósidos y betaláctamicos los de mayor prevalencia y diversidad. El 81% (64/79) de los genes de resistencia se encontraban en plásmidos. La totalidad de los genomas presentaron al menos un gen de virulencia, con un número máximo de 27 genes. Se identificaron 1,126 genes de virulencia, de 89 tipos diferentes. La mayoría de esos genes fueron asociados al proceso de adherencia y síntesis de toxinas. A diferencia de los genes de resistencia a antibióticos, solo el 43% (38/89) de los genes de virulencia se encontraban en plásmidos. El total de plásmidos identificados en las 77 cepas alimentarias fue de 161; de esos, el 37% fue conjugativo o movilizable. Se identificaron 29 replicones, siendo IncFIB (30%) el más frecuente; sin embargo, el 12% (20/161) de los plásmidos no pudo ser tipificado. **Conclusión:** Este análisis revela la diversidad genética de *E. coli* de origen alimentario, mostrando una alta prevalencia de genes de virulencia y resistencia a antibióticos localizados en plásmidos, algunos de ellos conjugativos, mismos que pueden facilitar su transferencia a otras bacterias a través de la cadena alimentaria, implicando un alto potencial de riesgo a la salud humana y animal.

Financing: Posgrado en Microbiología, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas. ICUAP. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

VIRULENCE FACTORS OF *Salmonella* sp. ISOLATED FROM CHICKEN IN THE PERIOD FROM 1999 TO 2018

Nathalia Cristina Cirone Silva¹, Rafaela M. Morasi¹, Karen V. M. Nuñez¹, Vera L. M. Rall²

(1) UNICAMP, Campinas, Brazil

(2) UNESP, Botucatu, Brazil

Salmonella spp. represents one of the main bacteria described in food disease outbreaks worldwide, usually involving foods such as chicken meat and raw eggs. *Salmonella* pathogenicity can be expressed from genes encoding virulence factors. They are responsible for the microorganism's capacity for invasion, survival, replication, and colonization in host cells. Most of these factors are found in specific regions of the bacterial chromosome named *Salmonella* Pathogenicity Islands (SPI). SPI-1, for example, is present in all species and subspecies of *Salmonella* and has genes mainly involved in the cell invasion process, such as the *invA* gene. The *sopB* gene is responsible for the symptoms of diarrhea and *sopD* gene is capable of breaking the host's cell membrane. *sitC* gene creates an iron uptake system, *sipA* gene facilitates bacterial invasion through changes in actin filaments, *sipB* gene is responsible for apoptosis in macrophages, and *sipD* gene adjusts the bacterial internalization. The present study aimed to analyze the presence of seven genes belonging to SPI-1 that encode virulence factors in a total of 236 strains of *Salmonella* sp. isolated from chicken carcasses from 1999 to 2018 in Botucatu city, Brazil, providing an epidemiological panorama of the virulence of this microorganism over time. The isolates were tested using the polymerase chain reaction (PCR) technique and the products were subjected to electrophoresis in a 1.5% agarose gel in boric acid-Tris-EDTA buffer and developed with Syber Safe (Invitrogen). The *invA*, used for confirming the specie, and *sitC* genes were found in all 236 strains analyzed (100%), followed by *sopB* (98.3%), *sipA* (95%), *sipB* (88.6%), and *sipD* genes (63.1%). *sopD* gene was the least frequent gene, present in 90 strains (38.1%). Each strain analyzed had at least two virulence genes, and from the total, 54 isolates (22.9%) had all seven genes described. It is possible to conclude that all strains studied were considered capable of recognizing and invading host cells, as well as surviving, multiplying, and moving in the intracellular environment, demonstrating their high pathogenic potential and reinforcing the possibility of triggering infections in humans.

Financing: FAPESP grant 2020/03268-8

Determinación de la prevención de la infección por *Helicobacter pylori* mediante el consumo de una gelatina suplementada con la cepa probiótica *Lactobacillus fermentum* UCO-979C en población juvenil chilena.

Cristian Andres Parra Sepúlveda¹, Kimberly Sánchez-Alonzo¹, Cristian Gutierrez-Zamorano¹, Katia Sáez Carrillo², Apolinaria García Cancino¹

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Estadísticas, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Concepción, Chile

Introducción: La infección por *Helicobacter pylori* se asocia a diversas patologías gástricas, donde se destaca la enfermedad péptica ulcerosa, el linfoma de MALT y su fuerte asociación con el desarrollo de cáncer gástrico. El tratamiento contra *H. pylori* empleando bacterias probióticas, es una alternativa emergente para prevenir patologías asociadas a este microorganismo. *Lactobacillus fermentum* UCO-979C, es una cepa aislada del estómago humano y posee una potente actividad anti-*H. pylori*. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del consumo de la cepa probiótica *L. fermentum* UCO-979C, incorporada en una gelatina, sobre la infección por *H. pylori*, en estudiantes que asisten a la Universidad de Concepción, Chile. **Método:** Este trabajo fue un estudio aleatorizado doble ciego controlado con placebo de 12 semanas. Consistió en el consumo de la cepa probiótica *L. fermentum* UCO-979C, incorporado en una gelatina de 100 g que contenía una concentración bacteriana $> 10^7$ UFC mL⁻¹ por porción. Participaron 131 estudiantes, de éstos 67 consumieron la gelatina probiótica y 64 consumieron la gelatina sin el probiótico (como placebo). La infección por *H. pylori* se evaluó por antígeno en deposición al comienzo y al final de la intervención. Los participantes firmaron un formulario de consentimiento informado previamente aprobado por el Comité de Ética, Bioética y Bioseguridad de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo de la Universidad de Concepción. Los datos se analizaron utilizando el software SPSS 22.0 y los valores de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos. **Resultados:** Se observó que 56 (42,7%) participantes del estudio fueron positivos para la infección por *H. pylori*. De este grupo, aquellos que consumieron la gelatina probiótica 29 (96,7%) mantuvo la infección y 1 (3,3%) dio negativo para esta infección, y de aquellos que consumieron el placebo, 26 (100%) mantuvo la infección ($p > 0,9999$). De los 75 (57,3%) participantes que dieron negativo para la infección por *H. pylori* sólo un (2,7%) participante resultó positivo para la infección por *H. pylori* después del consumo de la gelatina probiótica y 36 (97,3%) se mantuvieron como negativos para la infección; de este mismo grupo los que consumieron el placebo 13 (34,2%) participantes resultaron positivos para la infección y 25 (65,8%) participantes dieron negativo para la infección por *H. pylori* ($p < 0,0005$). **Conclusión:** El consumo de la cepa *L. fermentum* UCO-979C tiene un efecto profiláctico previniendo la infección contra *H. pylori* de forma significativa.

Financing: Este trabajo fue financiado por el proyecto Corfo 14IDL2-29744, Innova-Chile (Chile).

DETECCIÓN DE GENES *vacA* y *cagA* DE *Helicobacter pylori* EN AGUA DE RIEGO Y POTABLE

Emerson Pocasangre¹, Lorena Cardona¹, **Mario Romero**²

(1) Universidad Evangélica de El Salvador, Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina, San Salvador, El Salvador

(2) Universidad de El Salvador, Departamento de Bioquímica y Contaminación Ambiental, Facultad de Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador

La infección por *Helicobacter pylori* causa cuadros clínicos gastrointestinales con síntomas leves y graves, pudiendo colaborar en la causalidad de un cáncer estomacal. La prevención de la transmisión es lo más importante para ello se debe de conocer el mecanismo exacto de transmisión y reservorios extragastricos como el agua de este patógeno. **OBJETIVO:** Detectar molecularmente los genes *vacA* y *cagA* de *Helicobacter pylori* en aislados de agua de riego y agua potable. **MATERIALES Y MÉTODOS:** se examinaron 25 muestras de agua potable y 25 de agua residual por medio de filtración por membrana, se utilizaron, medios de cultivo selectivos para aislar la bacteria, pruebas bioquímicas (oxidasa, catalasa y ureasa), extracción de DNA, Reacción en cadena de la polimerasa punto final y antibiograma por el método de kirby bahuer. **RESULTADOS:** El 32% de las muestras de agua potable en su etapa de enriquecimiento resultaron positivas, sin embargo, en la etapa de aislamiento de *Helicobacter pylori* todas resultaron ser negativas para la bacteria. Para las aguas de riego, el 20% resultaron positivas en la etapa de enriquecimiento por lo que se confirmó con pruebas bioquímicas y PCR ARN 16S, para lo cual se obtuvo que el 100% de las cepas aisladas son portadoras de los genes *vacA* y *cagA*. El antibiograma realizado mostró una sensibilidad a claratromicina y levofloxacina; y resistencia a Amoxicilina y Metronidazol, antibióticos tradicionales usados en el tratamiento contra la infección de esta bacteria. **CONCLUSIÓN:** No se puede descartar al agua potable como vía trasmisión y reservorio a pesar de no aislar la bacteria. El agua de riego es un factor de riesgo ya que puede contaminar a los cultivos de hortalizas con *Helicobcater pylori* esto sugiere que este reservorio podría ser una vía secundaria de transmisión en nuestro país.

Aislamiento y detección de genes relacionados con la virulencia en *Proteus mirabilis* aislado de carne de pollo vendida en carnicerías del norte de Paraná, Brasil.

Victor Hugo Montini¹, Matheus Silva Sanches¹, Luana Carvalho Silva¹, Bruno Henrique Dias de Oliva¹, Eliana Carolina Vespero², Sergio Paulo Dejato Rocha¹

(1) Laboratório de Bacteriologia, Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, km 380 - Campus Universitário, PR, 86057-970, Londrina, Brasil

(2) Laboratório de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Av. Robert Koch, 60 - Operária, Londrina - PR, 86038-440, Londrina, Brasil

Dado que los alimentos son uno de los medios de propagación de bacterias, la carne gana un cierto enfoque debido a la facilidad de contaminación durante todas las etapas de su procesamiento en la industria alimentaria y carnicería. Por tanto, es sumamente importante que la calidad microbiológica de la carne esté garantizada, sobre todo si tenemos en cuenta la posibilidad de que estas carnes tengan cepas virulentas. *Proteus mirabilis* es una bacteria gramnegativa que se encuentra en el medio ambiente y se aísla de las heces animales y humanas, siendo responsable de provocar una variedad de infecciones en el ser humano, en las que las del tracto urinario son las más frecuentes. La patogenicidad de esta especie se justifica por la presencia de genes que expresan factores de virulencia como las fimbrias responsables del proceso de adhesión a las células huésped, proteasas capaces de degradar inmunoglobulinas, hemolisinas capaces de lisar eritrócitos y receptores sideróforos responsables para la adquisición de hierro del anfitrión. Por tanto, el objetivo de este estudio fue aislar *P. mirabilis* de la carne de pollo y detectar los genes de virulencia *mrpA*, *pmfA*, *ucaA* y *atfA* (fimbrias), *zapA* y *ptA* (proteasas), *hpmA* y *hlyA* (hemolisinas), y *ireA* (receptor de sideróforo). Entre abril y diciembre (2019) se recolectaron 200 muestras de carne de pollo de carnicerías ubicadas en todas las regiones de Londrina (PR), se pesaron asépticamente en 25g cada muestra y se incubaron en 225 mL de agua peptonada estéril durante 24 horas a 37 °C. Después del crecimiento, se añadió 1 mL del cultivo a 10 mL de caldo BHI tratado con polimixina (0.5 mg/mL) y se incubó nuevamente durante 24 horas a 37 °C. El cultivo se sembró en placas de agar XLD y se incubó durante 24 horas a 37 °C. Las colonias sospechosas de ser *P. mirabilis* se sometieron a series bioquímicas (EPM, MiLI, citrato de Simmons y fenilalanina) para confirmar la especie. La extracción de material genético se realizó mediante ebullición y el ADN se sometió a la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de genes de virulencia. Fue posible recuperar *P. mirabilis* de las 200 muestras de carne de pollo de las que se detectó *mrpA* y *pmfA* en 200 (100%), *ucaA* en 106 (53%), *atfA* en 199 (99,5%), *zapA* en 198 (99%), *ptA* en 197 (98,5%), *hpmA* en 196 (98%), *hlyA* en ningún aislamiento (0%) y *ireA* en 119 (59,5%). La alta frecuencia de recuperación de *P. mirabilis* de la carne de pollo en este estudio destaca la posibilidad de que la carne de pollo se considere un importante reservorio y fuente de diseminación de *P. mirabilis*, lo cual es extremadamente alarmante dada la alta prevalencia de genes de virulencia encontrados en nuestros aislamientos. Se concluye que *P. mirabilis* aislado de carne de pollo tiene una variedad de genes de virulencia que contribuyen a la infección en humanos, siendo fundamental el cuidado por parte de los consumidores al momento de preparar la carne.

Financing: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)

COMPUESTOS DE ORIGEN MICROBIANO COMO ESTRATEGIAS DE BIOCONTROL DE BIOFILMS MULTIESPECIE FORMADOS EN SUPERFICIES DE USO ALIMENTARIO.

María del Rosario Agustín¹, María Clara Tarifa^{2,3}, Soledad Vela Gurovic⁴, Lorena Inés Brugnoli¹

(1) Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur, INBIOSUR (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

(2) Universidad Nacional de Río Negro, CIT Río Negro, Río Negro, Argentina.

(3) Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro, CIT Río Negro (UNRN-CONICET), Villa Regina, Río Negro, Argentina.

(4) Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

En el ambiente de procesado de alimentos, la microbiota existente se encuentra formando parte de comunidades mixtas en las cuales se dan interacciones únicas que pueden resultar en el desarrollo de tolerancias y/o resistencias por parte de los microorganismos incluidos en ellas a agentes químicos utilizados tradicionalmente en los procesos de sanitización, llevando una mayor persistencia en las superficies de los equipos de producción. Uno de los mayores riesgos para la industria alimentaria es la inclusión de bacterias patógenas en estos biofilms. A fin de desarrollar estrategias de biocontrol enfocadas en la prevención de la formación de los mismos, se analizó el efecto de natamicina (N), agente antifúngico, en combinación con farnesol (F), molécula quorum sensing, sobre la adhesión y colonización de levaduras, aisladas de membranas de ultrafiltración (UF), y bacterias patógenas causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs). *Candida tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefir* y *Rhodotorula mucilaginosa* (inóculo 106 UFC ml⁻¹), se mezclaron en partes iguales con una suspensión ajustada (108 UFC ml⁻¹) de *Listeria monocytogenes* (LM), *Salmonella enterica* (SE) o *Escherichia coli* O157:H7 (EC) en jugo de manzana de 12° Brix. Cada combinación de levaduras/bacteria se puso en contacto con membranas de UF de fluoruro de polivinilideno y acero inoxidable (AI) AISI 304-316 de 1 cm², por 2 h con natamicina (0,01 mmol l⁻¹) y farnesol (0,6 mmol l⁻¹) como tratamientos, o sin (controles) a 25° C. Después de este tiempo se renovó el jugo con o sin N+F y se incubó por otras 24 y 48 h. Además, se analizó la adhesión de la mezcla de levaduras sin bacteria. Luego de cada periodo de incubación se realizó el recuento en superficie en agar Oxford modificado para LM, Sulfito Bismuto para SE, EMB para EC, CHROMagar *Candida* para las levaduras. Los resultados se expresaron en UFC cm⁻². En este estudio, la combinación N+F tuvo efecto sobre la mezcla de levaduras reduciendo significativamente ($p < 0,001$) la adhesión en las membranas hasta 3 unidades logarítmicas a las 48 h, ya sea en presencia o ausencia de las bacterias patógenas. Con respecto al efecto de N+F sobre las bacterias patógenas en el biofilm multiespecie, se observó a las 48 h que los recuentos disminuyeron significativamente en 0,52, 1,68 y 3,95 unidades logarítmicas para SE, EC y LM, respectivamente. El efecto del tratamiento con N+F en la disminución del número de células adheridas tanto de las levaduras como de las bacterias patógenas fue semejante en ambas superficies ensayadas, sin observarse diferencias significativas ($p > 0,05$). La combinación de N+F no solo fue efectiva reduciendo el número de células adheridas de las levaduras sino que también se pudo observar que la presencia de ambos compuestos afectó la adhesión y supervivencia de las tres bacterias patógenas causantes de ETAs siendo LM la más susceptible en las condiciones testeadas. Estos resultados sugieren que la combinación de natamicina y farnesol en las concentraciones ensayadas podría emplearse como método de biocontrol en superficies de uso alimentario.

Financing: El presente trabajo fue financiado por el PICT 2015-0156 y el PICT 2018-00974, ambos otorgados por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) de la República Argentina.

Calidad microbiológica de hierbas medicinales más utilizadas para tereré en la ciudad de Villeta, Paraguay

María Laura Rojas Aguadé¹, Lissi Arzamendia², Neide Verón², Natalia Silgueira², Ángel Gavilán², Karina Medina¹, Héctor Arazari², Brenda Veloso¹, Elvio Gayozo³, Karen Martínez¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología Industrial, San Lorenzo, Paraguay

(2) Colegio Técnico Departamental Municipal Dr. Eusebio Ayala, Especialidad en Química Industrial, Villeta, Paraguay

(3) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo, Paraguay

El tereré es una bebida fría tradicional de Paraguay que se prepara con yerba mate, agua y hierbas medicinales previamente maceradas en un mortero. Las prácticas y los conocimientos tradicionales relacionados con el tereré son muy extendidos por todo el territorio paraguayo. Tradicionalmente, las hierbas medicinales son comercializadas en fresco y consumidas sin mayores procesos de sanitización y desinfección. Con el fin de conocer la calidad microbiológica de las hierbas medicinales comercializadas en los puestos de venta de la Ciudad de Villeta, Departamento Central, se seleccionaron las tres hierbas medicinales más comercializadas de acuerdo a una encuesta realizada a los vendedores, resultando estas Taropé (*Dorstenia brasiliensis*), Kapi'í Katí (*Killinga adorataes*) y Santa Lucía (*Commelina erecta*). Posteriormente se seleccionaron 9 puntos de muestreo en el municipio para la toma de muestra por triplicado de cada hierba medicinal. Se realizaron tres diluciones seriadas para cada muestra, y se determinaron los parámetros de aerobios mesófilos totales, y mohos y levaduras por método tradicional de recuento en placa, y coliformes totales y *Escherichia coli* por el método de recuento en Placa Petrifilm. Los resultados obtenidos fueron comparados con los valores máximos recomendados por la Organización Mundial de la Salud mediante el empleo del test de Krukal-Wallis y la prueba de Conover (5% de nivel de significancia). Se registró la contaminación de las hierbas medicinales en las condiciones de venta para los cuatro parámetros estudiados. Santa Lucía fue la hierba más contaminada con aerobios mesófilos totales con un recuento promedio de $7,0 \times 10^6$ UFC/g de muestra, seguido de Kapi'í katí con $6,5 \times 10^6$ UFC/g de muestra. Así también, se observó a Kapi'í katí como la hierba que presentó mayor recuento de mohos y levaduras con $1,4 \times 10^7$ UFC/g de muestra, seguida de Santa Lucía con $8,9 \times 10^6$ UFC/g de muestra. Las hierbas Santa Lucía y Kapi'í katí nuevamente presentaron los mayores recuentos de coliformes totales, siendo sus resultados $2,1 \times 10^6$ y $2,0 \times 10^6$ UFC/g de muestra, respectivamente. Pese a tener los menores recuentos de coliformes totales, Taropé fue la que presentó mayores recuentos de *E. coli* con $1,3 \times 10^6$ UFC/g. Las muestras evaluadas demostraron sobrepasar significativamente ($p < 0,0001$) los límites recomendados de microorganismos indicadores por la Organización Mundial de la Salud para plantas medicinales (aerobios mesófilos $1,0 \cdot 10^5$ UFC/g, mohos y levaduras $1,0 \cdot 10^3$ UFC/g, coliformes totales $1,0 \cdot 10^3$ UFC/g, *E. coli* $1,0 \cdot 10^1$ UFC/g). Estos resultados indican la necesidad de replantear las costumbres de consumo tradicionales añadiendo a la infusión una etapa previa de lavado y desinfección de las hierbas medicinales, y la educación a la comunidad para incorporar estas prácticas de higiene, a fin de lograr una disminución del riesgo para la salud de los habitantes ante el consumo masivo de esta bebida tradicional tan difundida en el país.

Financing: Agradecimientos a JCM Import Export S.A.

Efecto antimicrobiano de cultivos de *Lacticaseibacillus paracasei* cepa UAEH20 desarrollados en caldo con y sin inulina contra *Helicobacter pylori* y *Campylobacter jejuni*

Brenda Esmeralda Jimenez Villeda¹, Reyna Nallely Falfán Cortés², Raquel Cariño Cortés³, Eva María Santos López¹, Esmeralda Rangel Vargas¹, Javier Castro Rosas¹

(1) Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5, Mineral de la Reforma, C.P. 42184, Hidalgo, México

(2) Catedrática CONACYT-UAEH, Mineral de la Reforma, C.P. 42184, Hidalgo, México

(3) Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), Instituto de Ciencias de la Salud, Carretera Actopan-Tilcuautla, Ex-Hacienda la Concepción s/n. San Agustín Tlaxiaca, C.P. 42086, Hidalgo, México

Introducción: En la actualidad *Helicobacter pylori* es responsable de hasta el 70% de las infecciones intestinales a nivel mundial además de considerarse un carcinógeno tipo I. Por otro lado, *Campylobacter jejuni* está considerado dentro de las cuatro principales causas a nivel mundial de gastroenteritis, además de presentar elevada tasa de mortalidad en niños, personas de edad avanzada e inmunodeprimidos. La eficacia de los tratamientos terapéuticos estándar para tratar las infecciones causadas por estos patógenos está disminuyendo debido a la aparición de cepas resistentes a antibióticos, por lo que es importante buscar tratamientos alternos. Para ello, los probióticos han demostrado inhibir del crecimiento de *H. pylori* y *C. jejuni*. Recientemente, en nuestro laboratorio se aisló e identificó molecularmente mediante el gen 16s del ARN ribosomal a una cepa de *Lacticaseibacillus paracasei* que se denominó como cepa UAEH20 y que mostraron efecto antimicrobiano contra *Salmonella Typhimurium* y *Escherichia coli* productora de toxina Shiga tanto en medio de cultivo como en ratones CD-1. De acuerdo con los criterios internacionales, esta cepa de *Lacticaseibacillus paracasei* UAEH20 es considerada como bacterias probióticas. **Objetivo:** Evaluar in vitro la capacidad inhibitoria de cultivos de *Lacticaseibacillus paracasei* UAEH20 (UAEH20), desarrollados con y sin inulina contra *H. pylori* ATCC 700392 y *Campylobacter jejuni* ATCC 33560. **Metodología:** UAEH20 se cultivó en caldo MRS sin y con inulina en 4 concentraciones (0.6%, 0.8%, 1% y 1.2%). Se evaluó el crecimiento en MRS sin y con inulina de UAEH20 y el efecto inhibitorio in vitro contra *H. pylori* y *C. jejuni* empleando la técnica de difusión en pozos y la denominada "spot on the lawn". **Resultados:** *Lacticaseibacillus paracasei* cepa UAEH20 mostró efecto antibacteriano contra *H. pylori* y *C. jejuni*. Se observaron zonas de inhibición de $9.67\text{mm} \pm 0.28$ y $10.67\text{mm} \pm 2.08$ contra *H. pylori* y contra *C. jejuni* respectivamente. La incorporación de inulina incrementó de manera significativa ($p < 0.05$) el efecto inhibitorio del probiótico UAEH20 principalmente contra *H. pylori*. **Conclusión:** El probiótico UAEH20 inhibió a *H. pylori* y *C. jejuni* in vitro y su efecto inhibitorio se incrementó con la incorporación de inulina en el medio. El probiótico denominado como UAEH20, tiene potencial uso como coadyuvantes en el tratamiento de enfermedades causadas por *H. pylori* y *C. jejuni*. No obstante, es necesario realizar estudios al menos en modelos animales para conocer su efecto probiótico contra *H. pylori* y *C. jejuni*.

Calidad microbiológica de pescados capturados en el río Usumacinta, México

María Concepción de la Cruz-Leyva¹, Lázaro de la Torre-Gutiérrez¹, Francisco Rodríguez-Flores¹, Nicolás González-Cortés¹, José Ulises González-de la Cruz¹

(1) Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos, Carretera Tenosique a Estapilla Km 1, Tenosique, Tabasco, México

Por su elevado contenido de humedad y composición química los productos pesqueros son susceptibles al deterioro por microorganismos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad microbiológica de pescados, capturados de forma artesanal en la cuenca media del río Usumacinta, México. Las especies pesqueras se recolectaron vía pescador. El análisis microbiológico se desarrolló según las recomendaciones de las NOM (NOM-109-SSA1-1994; NOM-110-SSA1-1994; NOM-112-SSA1-1994; NOM-113-SSA1-1994 y NOM-114-SSA1-1994). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Se recuperaron un total de 53 ejemplares en la temporada de lluvias y 36 ejemplares en la temporada de seca; identificando un total de 17 especies ($n=3$) entre las que se ubicaron: macabíl *Brycon guatemalensis*, bobo liso *Italurus meridionalis*, chopín, bobo escama *Ctenopharyngodon idella*, pejelagarto *Atractosteus tropicus*, juil *Rhamdia guatemalensis*, guavina *Gobiomorus dormitor*, tilapia *Oreochromis niloticus*, vagre, cabeza de fierro *Potamarius nelsoni*, tenguyaca *Petenia splendida*, pigua *Macrobrachium carcinus*, mojarra pinta *Cichlasoma friedrichsthalii*, róbalo *Centropomus undecimalis*, sábalo *Megalops atlanticus* y chopá *Ictiobus meridionalis*. Estos productos pesqueros registraron la mayor concentración de coliformes totales se registró en intestinos y branquias de los pescados analizados en la temporada de lluvias y secas. Con respecto a los coliformes fecales la concentración fue de 11 a 75 NMP/100 g en la época de lluvias; el macabíl, vagre y la tenguyaca fueron los menos contaminados. En la temporada de secas se registró un rango de 17 a 79 NMP/100 g, de coliformes fecales; donde el topuche y la chopá fueron los menos contaminados. Se aislaron 356 cepas putativas de Enterobacteriaceae. En la temporada de lluvia el 39.16% fueron *Salmonella* sp, 28.14% *Enterobacter* sp, 19.77% *Klebsiella* sp y 12.93% *Escherichia* sp. En la temporada de secas se aislaron 98 cepas, donde el 63.27 % fueron *K. pneumoniae*, el 17.35 % *Shigella flexneri*, el 10.20 % *E. coli* y el 9.18 % *S. typhimurium*. La concentración y diversidad bacteriana detectada en las especies pesqueras investigadas, puede estar influenciada por la contaminación antropogénica y por el tiempo en el que los pescadores trasladan el pescado al expendio comercial. Hay que tener presente que la mayoría de la flora microbiana contaminante se elimina con la cocción de los productos pesqueros, disminuyendo la posibilidad de infecciones o toxiinfecciones alimentarias en los consumidores.

Financing: Estudio de la calidad del agua y tres especies pesqueras de la cuenca alta del río Usumacinta, México. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT: 2013IB-04-2016).

The stable profile of the lactic microbiota in Minas Artisanal Cheese from Serro region

Letícia Rocha Ferreira^{1,2}, Milimani Andretta¹, Thaiza Teixeira de Almeida², Carvalho Antonio Fernandes², Ricardo Seiti Yamatogi¹, Douglas Ruben Call³, **Luís Augusto Nero**^{1,3}

(1) Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, Campus Viçosa, Centro, s/n, 36570 900, Viçosa, MG, Brazil

(2) Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Campus Viçosa, Centro, s/n, 36570 900, Viçosa, MG, Brazil

(3) Washington State University, Paul G. Allen School for Global Health, College of Veterinary Medicine, 1155 NE College Ave, 99164, Pullman, WA, USA

Minas artisanal cheese (MAC) are traditionally produced in several regions of Minas Gerais with raw milk and endogenous starter, “pingo”, derived from MAC desorption. In addition to the traditional production, some producers in the Serro region use “rala” as endogenous starter, obtained from grating the cheese after 3-5 days of production. such procedures can lead to changes in the MAC microbiota, including the lactic acid bacteria that plays a fundamental role in production, ripening, development of sensory characteristics and safety. The knowledge of the lactic microbiota of MAC supports the characterization of its identity and allows its establishment as a regional symbol. The study of the lactic microbiota of fermented products is carried out by culture-dependents and culture-independents methods, allowing an ideal approach to characterize the microbiota of artisanal cheeses. This study aimed to characterize the autochthonous lactic microbiota of MAC of Serro region with different production characteristics by culture-dependent and -independent methods. Cheese samples (n = 55) were obtained at CooperSerro and characterized for endogenous starter (“pingo” and “rala”), producing city, size of the producing farm (daily milk production) and production time (days). Samples were subjected to enumeration of lactic acid bacteria (LAB) in MRS agar, pH 5.7 and obtaining isolates (n = 176) that were characterized by rep-PCR and identified by region sequencing V1-V3 of the 16S rRNA. In parallel, the samples were subjected to total DNA extraction for characterization of microbial diversity by rep-PCR, Denaturing Gradient Gel Eletrophoresis (DGGE) and sequencing of the V3-V4 region of the 16S rRNA. LAB counts in SAC samples ranged between 5.4 and 8.4 log CFU/g with a mean value of 6.9 log CFU/g, and the main groups/genus identified were lactobacilli, *Lactococcus lactis* and *Enterococcus* sp. No trends in LAB counts and distribution were not identified considering the characteristics of the samples. Rep-PCR identified intraspecies similarities >75%. The sequencing of DGGE bands identified the prevalence of *L. lactis* in all samples, in addition to *Streptococcus salivarius*. Considering the total DNA of the samples, *L. lactis* was identified as the dominant species in all samples. The lactic microbiota of SAC has a stable composition, with no evident variations considering the evaluated production characteristics

Financing: CAPES, CNPq, FAPEMIG, FUNARBE

CARACTERÍSTICAS DEL CONSUMO DE ALIMENTOS EN LA VÍA PÚBLICA, PARAGUAY (2020)

María Isabel Melgarejo¹, Pasionaria Ramos²

(1) FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCION (FCQ - UNA), ESPECIALIZACIÓN EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS, CIENCIAS QUÍMICAS, CAMPUS UNIVERSITARIO DE SAN LORENZO, SAN LORENZO, PARAGUAY

(2) Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción (FCQ - UNA), Programa de Especialización en Ciencias de los Alimentos, Campus Universitario de San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay

Introducción: La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) señala que los alimentos producidos en la vía pública son poco costosos en comparación con los alimentos preparados en el sector gastronómico y el hogar. Satisfacen, además, la necesidad de las personas de disponer de alimentos en los lugares de trabajo o de esparcimiento social. Muchos de los alimentos expendidos son alimentos típicos, alimentos que difícilmente sean preparados en el hogar de manera habitual. Sin embargo, las condiciones en las cuales son manipulados son precarias, por lo que existe un alto riesgo de que las mismas originen brotes y casos de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). **Objetivo:** caracterizar el consumo de alimentos en la vía pública en Paraguay durante el año 2020 **Materiales y métodos:** estudio observacional, descriptivo, de corte transversal, analítico, temporalmente prospectivo. El ámbito geográfico fue todo el país, y el ámbito temporal fue el mes de octubre de 2020. El muestreo fue no probabilístico por conveniencia. El cuestionario fue enviado electrónicamente y contaba con preguntas relacionadas a las características demográficas de los consumidores y sus hábitos de consumo de los alimentos en la vía pública. **Resultados:** Fueron encuestados 397 consumidores, 79,1% (314) fueron del sexo femenino, el 58,7% (233) contaba entre 18 a 40 años, 54,7% (217) residía en el Área Metropolitana, 47,6% (189) eran solteros, 62,3% (134) universitarios y 59,4% (236) empleados. El 59,4% (236) no consume alimentos en la calle. El 40,3% (95) no consume alimentos en la vía pública porque "la calidad de la comida es mala" y el 25,0% (59) porque "le parecían sucios". En cuanto a las sugerencias para mejorar la calidad del producto /servicio, el 5,0% (8) sugirió "mejorar la calidad de los ingredientes utilizados en la preparación". Los que consumen alimentos en la vía pública, 42,9% (69) lo hacen porque es "rápido y fácil", de manera "ocasional" 50,9 % (82) y el 77,6 % (125) lo hace una vez al día. Los tres alimentos consumidos con mayor frecuencia fueron lomitos (43,5%, 70), empanadas (6,2%, 10) y hamburguesas (5,0%, 8). El 14,35 (23) respondió haber tenido una experiencia negativa al comer en la calle, de los cuales el 1,9% (3) tuvo que faltar a su lugar de trabajo o estudio debido a estos malestares, presentado uno de ellos vomito (0,6%, 1). En cuanto a las experiencias negativas referidas, el 7,5% (12) mencionaron sabores extraños, 2,5% (4) encontraron insectos y 1,9% (3) olores extraños. En cuanto a las características demográficas de los que consumen alimentos en la vía pública, 37,6% (118) son mujeres, 48,9% (114) presentaban edades comprendidas entre 18 y 40 años, 46,6% (88) solteros, 57,8% (9) empleados y 41,0% (141) universitarios. Se observó una relación estadística entre el consumo en la calle y el sexo, la edad y ocupación ($p < 0.05$) **Conclusión:** se necesita realizar campañas de capacitación a los manipuladores a fin de mejorar la inocuidad de los alimentos expendidos en la vía pública. **Palabras claves:** alimentos, vía pública, Paraguay.

Financing: No se recibió financiamiento

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS DURING MATURATION OF AGED MEATS

Luiz Gustavo Matos¹, Anderson Clayton da Silva Abreu¹, Victoria Vilaça Martins Alencar de Souza¹, Karen Vanessa Munive Nuñez¹, Nathália Cristina Cirone Silva¹

(1) University of Campinas, Department of Food Science, Faculty of Food Engineering, Rua Monteiro Lobato, 80 - Cidade Universitária Zeferino Vaz, Campinas, Brazil

Wet-aging and dry-aging are two common processes for maturing meat. Beef is known to be contaminated from the moment of bleeding until the moment it is sold. Whether because of its nutrient or other qualities, in addition to the influence of certain environmental factors it can become an excellent substrate for numerous species of microorganisms to grow and multiply. Three groups of bacteria are commonly found in meat maturation: lactic acid bacteria, mesophilic bacteria, and psychotropic bacteria. The genus *Salmonella* sp, which despite being present in the animal microbiota, is associated with diseases in humans and economic losses. *Staphylococcus aureus* intoxication continues to be one of the main causes of STDs in the world, this is mainly due to the growth temperature. Aiming to reduce economic losses due to deterioration, reduce state costs with public health, and appreciate the health of the final consumer of the product. It was used 30 samples of meat, which 6 were without treatment, 12 samples were dry-aged (6 samples at 20 and 6 at 34 days) and 12 wet-aged (6 samples at 20 and 6 at 34 days). For all tests, a piece of the sample was homogenized in Peptone Water and serial dilutions were made up to 10⁻³, after that, 1 ml of each sample was inoculated on a plate with VRBG (for Enterobacteriaceae family), 0.1 ml of each sample in a plate with PCA agar (mesophilic and psychotropic groups), 1 ml of each sample was inoculated on a plate with MRS Agar (Lactic bacteria), 1 ml of each sample in a plate with EMB agar (*E. coli*), and 1 ml of each sample was added to a plate with PDA (mould and yeast). For detection of *Salmonella*, a piece of the food sample was homogenized in peptone water to grow for 24 hours, next, 1 mL will be seeded into a test tube containing tetrathionate broth and Rappaport-Vassiliadis broth and incubated for 24 hours, after this period, one aliquot from each tube was seeded onto Petri dishes containing agars xylose-lysine-deoxycholate (XLD), Hektoen Enteric, and bismuth sulfite, after that characteristic *Salmonella* colonies were isolated and reseeded into test tubes containing tilted trypticase agar (TSA), finally biochemical tests were done to evidence the presence of *Salmonella*. In our samples, there was no growth of *E. coli*, but it was possible to see a significant growth of all microorganisms in all samples on 20 days. For dry-aged beef the growth decreased on 34th day, while it still increased on the wet aged samples, especially psychotropic bacteria and lactic bacteria. It was also possible to see the presence of *Salmonella* sp in some samples of beef without treatment, in one sample of wet-aged beef within 20 days and two of dry-aged in the same period, after the maturation, at 34 days, this was not observed. The inhibition of *E. coli* growth could be led due to competition against other microorganisms. The temperature and pecking might have affected the growth of psychotropic and lactic bacteria in wet-aged.

Financing: Department of Food Science, Faculty of Food Engineering, University of Campinas, Campinas, Brazil

Vinificación y performance de fermentación maloláctica de cepas aisladas de residuos vitivinícolas y mosto de uvas del Norte Argentino

María Rosa Morales^{1,2}, Luciana del Valle Rivero^{1,2}, Fabiana Maria Saguir^{1,2}

(1) CONICET

(2) Universidad Nacional de Tucumán, Cátedra de Microbiología General, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Ayacucho 471, San Miguel de Tucumán, Argentina

La fermentación maloláctica (FML) es un proceso realizado en vinos tintos para mejorar sus características organolépticas e implica una disminución de la acidez, aumento de la untuosidad y una mayor complejidad en el perfil aromático. En las bodegas la FML es producida mayormente por bacterias lácticas comerciales. En este trabajo se propone el uso de bacterias lácticas autóctonas aisladas de residuos vitivinícolas y mostos de uva tinta, seleccionadas por su tolerancia al etanol y por no producir aminas biógenas. La vinificación se llevó a cabo en mostos de variedad Malbec (densidad y pH inicial: 1.115 g/cm³; 3.68) y Cabernet Sauvignon (densidad y pH inicial: 1.110 g/cm³; 3.60) provenientes de una bodega ubicada en Colalao del Valle, Tucumán, Argentina. Para realizar la fermentación alcohólica (FA) se inocularon por duplicado ambos mostos con la cepa *Saccharomyces cerevisiae* mc2, aislada en trabajos previos. Tras 10 días de incubación, mediante el monitoreo de la masa volúmica a 20°C, se dió por finalizada la FA. En la etapa final de FA se obtuvieron vinos con los siguientes valores: etanol 14,5% v/v, pH 3.72, azúcares residuales <2.00 g/L y ácido L-málico 2.87 g/L (Cabernet Sauvignon) y 2.50 g/L (Malbec). Para la FML se utilizaron las cepas MS46 y B18 (*Oenococcus oeni*, aisladas de mosto y borra de vino Malbec respectivamente), previamente crecidas hasta fase exponencial en un medio de aclimatación (MRS 50 g/L, Fructosa 40 g/L, Glucosa 20 g/L, ácido L-málico 4 g/L, Tween 80 1 g/L, Piridoxina 0,1 mg/L, Etanol: 7%). Tras centrifugación se inocularon por duplicado en una tasa de 107 UFC/mL, incluyendo además un ensayo control sin inoculación de bacterias. La FML se monitoreó mediante el consumo del ácido málico (kit enzimático R-Biopharm), controlando en paralelo el número de células viables. La viabilidad se determinó por método de diluciones sucesivas en medio MRS adicionado de Fructosa (5 g/L) y ácido L-málico (4 g/L). La concentración de ácido málico alcanzó con ambas cepas ensayadas niveles < a 0.02 g/L en el vino Malbec, tras 21 días. Por su parte, para el vino Cabernet Sauvignon se alcanzaron valores similares tras 28 días de incubación. En el caso del ensayo control, tras 28 días la concentración de ácido málico no sufrió modificaciones mayores, disminuyendo su concentración a valores de 2.65 y 2.22 g/L para el Cabernet Sauvignon y Malbec respectivamente. De esta manera tanto la cepa MS46 como la B18 demostraron una gran capacidad para concluir la FML, no presentando diferencias significativas entre sus comportamientos y mostrando una viabilidad del orden 10³ UFC/mL al finalizar la FML.

EVALUACIÓN DE LA FERMENTACIÓN LÁCTICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE COCO NUCIFERA UTILIZANDO DIFERENTES CULTIVOS LÁCTICOS, PROBIÓTICOS Y ESTABILIZANTES

Karen Patricia Martínez Jara¹, Andrea Yanina Serafini Pereira¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

Los alimentos que contienen microorganismos probióticos constituyen una categoría dentro de los alimentos funcionales. El término probiótico es una palabra que etimológicamente significa “a favor de la vida” y actualmente se utiliza para designar a microorganismos vivos que en estudios controlados en humanos han demostrado conferir beneficios a la salud de los seres humanos y los animales. La investigación se realizó en 4 etapas (A, B, C y D). En la etapa A se definieron las condiciones de fermentación de las bebidas elaboradas con el extracto acuoso de coco como parte preexperimental, estableciéndose 7 horas de fermentación a 42°C utilizando cultivo iniciador FD-DVS YoFlex® Mild 1.0 compuesto por las cepas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. En la etapa B, se utilizó un diseño factorial completo de 22, para evaluar el impacto de los factores porcentaje de coco y porcentaje de sacarosa en la formulación, tras analizar el efecto principal e interacciones se obtuvieron buenos ajustes del modelo de regresión lineal para las respuestas de pH y acidez con coeficiente de R² de 97,22% para el pH y 91,01% para la acidez. Para la etapa C, se planificó un diseño factorial completo 23 la influencia en la fermentación de los factores “A” (mezclas de cultivos iniciadores y probióticos) y “B” (espesantes) en la formulación, donde se evidencia que el pH disminuye conforme se avanza en los niveles de los factores estudiados, en cambio; la tendencia de la acidez es inversa y para ambas respuestas son significativos los factores de A y B; no así la interacción para la respuesta de la acidez; la combinación de factores que se ajusta mejor al comportamiento esperado es la combinación de A3 (*L. Bulgaricus*; *S. Thermophilus*, *Bifidobacterium lactis* y *L. acidophilus*) y B3 (goma xantana), pero debido a que esta combinación no presenta aspecto agradable para el consumidor por la separación de fases, se evaluaron formulaciones con almidón modificado y gelatina. Para la parte D, los resultados de análisis proximal son satisfactorios, los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos indican una calidad higiénico-sanitaria adecuada durante todo proceso de elaboración del producto y demuestran buena calidad microbiológica. En cuanto al comportamiento reológico corresponde al de un fluido pseudoplástico, donde la viscosidad aparente disminuye con el aumento de la velocidad de cizallamiento, lo cual es consistente con este tipo de productos.

Financing: El proceso de fermentación modificó positivamente los atributos sensoriales, fisicoquímicos, microbiológicos y reológicos de la bebida fermentada de coco.

Evaluación de la diversidad microbiana y contenido de Ocratoxina A en cerezas de *Coffea canephora* durante el procesamiento seco, desde la cosecha y en diferentes tiempos de secado usando secuenciación masiva de nueva generación

María Eugenia Aguilar-Alvarez¹, Eduardo Zúñiga-León¹, Gerardo Saucedo-Castañeda¹, Noël Durand^{2,3}, Isabel Perraud-Gaime⁴, Francisco Fernández-Perrino¹, Gabriela M. Rodríguez-Serrano¹

(1) Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología, Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Delegación Iztapalapa. C.P. 09340, Cd. de México, México

(2) CIRAD, UMR, Qualisud, F-34398, Montpellier, Francia

(3) UMR Qualisud, Univ Montpellier, CIRAD Univ d'Avignon, Univ de La Réunion, Montpellier, Montpellier SupAgro, Univ d'Avignon, Univ de La Réunion, Montpellier, Francia

(4) UMR-IMBE, Aix Marseille U, Avignon U., CNRS, IRD, Faculté de St Jérôme, Case 421, F-F13397, Marseille Cedex 20, Francia

Introducción. El café es un commodity que ocupa el segundo lugar en la generación de divisas por abajo del petróleo. Un problema en su cultivo y producción es la presencia de ocratoxina A (OTA), producida por hongos principalmente de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. La contaminación de OTA depende del procesamiento postcosecha, la humedad, la microbiota, la variedad del café, y al ser consumida, puede ocasionar serios problemas en la salud. En este estudio se evaluó la microbiota asociada durante el procesamiento seco del *Coffea canephora* y la prevalencia de OTA. **Metodología.** Se obtuvieron muestras de 1 kg de cerezas maduras frescas (R0), y procesadas durante 3 (R3), 8 (R8) y 10 (R10) días. Las muestras fueron colectadas en Santo Domingo, municipio de Unión Juárez, Chiapas, México (15°01'55.5"N, 92°06'13.1"W), durante 2018-2019. La OTA se determinó por duplicado usando un HPLC acoplado a un detector de fluorescencia. A partir del ADN genómico se amplificaron las regiones variables V3-V4 del gen ribosomal 16S e ITS2, usando los pares de oligonucleótidos universales Bakt_341F y Bakt_805R, e ITS3F y ITS4R, respectivamente. Los amplicones fueron secuenciados con la técnica de secuenciación de nueva generación (NGS) mediante una plataforma Illumina MiSeq™. Los datos fueron preprocesados y agrupados en variantes de secuencia de amplicón (ASVs). La anotación taxonómica se obtuvo a partir de bases de datos 16S e ITS (NCBI, SILVA, RDP y UNITE), entrenadas con el clasificador bayesiano de RDP. **Resultados.** El análisis NGS arrojó que los filo Firmicutes y Proteobacteria predominaron en todas las muestras siendo el primero, mayor en R8 (98%), seguido por R3 (83%) y R0 (72%), mientras que Proteobacteria fue mayor en R0 (28%). Además, en R10 predominaron Actinobacteria (37%), y Bacteroidetes (5%). Los géneros más abundantes fueron *Lactobacillus* (R0=68%, R3=79%), *Bacillus* R8 (71%) y *Corynebacterium* R10 (31%). Predominantemente las especies *Lactobacillus plantarum* (32%) en R0, *Lactobacillus brevis* (50%) y *Lactobacillus plantarum* (19%) en R3, *Bacillus ginsengihumi* (70%) en R8, y *Corynebacterium terpenatobidum* (25%) y *Lysinibacillus boronitolerans* (15%) en R10. Respecto a la diversidad fúngica, se observó que el filo Ascomycota predominó en todas las muestras (R0, R3, R8 y R10), siendo *Pichia* el más abundante en R0 y R3, *Aspergillus* y *Pichia* en R8, y *Meyeromyces*, *Pichia* y *Candida* en R10. Las especies sobresalientes en R0 y R3 fueron *Pichia sporocuriosa*, *Pichia* sp, *Hanseniaspora* sp, para R8 *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus brasiliensis* y *Pichia sporocuriosa*, y para R10 *Meyeromyces guilliermondii*, *Pichia sporocuriosa* y *Wickerhamomyces anomalus*. La mayor concentración de OTA (3.1 µg/kg) fue en R10, mientras que para R0 y R3 fue de 0.7 µg/kg y 1.2 µg/kg en R8. **Conclusiones.** Mediante NGS se identificó y correlacionó la diversidad bacteriana y fúngica con la OTA presente en cada muestra. Los géneros encontrados (*Lactobacillus*, *Pichia*) y especies (*L. plantarum*, *Pichia* anómala, *Pichia* sp.) han sido reportados como antagonistas del desarrollo de hongos ocratoxigénicos, además se encontró baja frecuencia de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Las especies identificadas, no son productoras de OTA, lo que refleja su baja concentración detectada en las muestras analizadas.

Financing: Agradecemos el apoyo económico de CONACYT (PROYECTO FONCICYT ANR-CONACYT (259874)) y de SEP/SEMS/ Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria y Ciencias del Mar por la beca del Doctorado de María Eugenia Aguilar Alvarez

Evaluación de la conservación de carne de res en un envase activo polisuccinimida microcelulosa aceite esencial de orégano

María Hernández-González¹, María de Lourdes Zarazua-Guerrero¹, Ana Margarita Rodríguez-Hernández², Haydeé Yajaira López-De La Peña¹, Francisco Hernández-Centeno¹, Ana María Ángel-Sánchez¹

(1) Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Ciencia y Tecnología de Alimentos, Ciencia Animal, Calzada Antonio Narro 1923, Colonia Buenavista C.P. 25315, Saltillo, Coahuila, Mexico

(2) Centro de Investigación en Química Aplicada, Biociencias y Agrotecnología, Blvd. Enrique Reyna Hermsillo 140 Colonia San José De Los Cerritos CP 25294, Saltillo, Coahuila, México

El envasado alimentario en fechas recientes ha tomado relevancia en torno a diversas condiciones que son de gran importancia en diferentes sectores de la sociedad como lo es el ambiental al buscar sustituir los empaques derivados de combustibles fósiles, por biobasados que contribuyan a reducir este problema. Desde el punto de vista de la tecnología de alimentos, en el sentido de que el empaque debe dejar su papel pasivo de simple contenedor por el de ser un agente activo que proporcione información sobre el estado que guarda el producto contenido en el, hasta contribuir con los procesos de conservación e inocuidad de los alimentos, privilegiando su funcionalización con aditivos de origen natural que se liberen de manera prolongada y sostenida al interior de la matriz alimentaria permitiendo con ello una conservación adecuada, mediante la mínima presencia de aditivos en el producto a consumir, reduciendo la consecuente ingesta de estos, por los hombres, que ha sido ligada al desarrollo e incremento de diversas enfermedades crónico degenerativas que padece la sociedad actual. La presente investigación tiene como objetivo evaluar la eficiencia para detener del desarrollo de dos agentes patógenos alimentarios de amplia prevalencia en los alimentos, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mediante el uso de un material de empaque biobasado de polisuccinimida (PS), almidón (ST) y microcelulosa (MC), funcionalizado al 4.50, 6.00 y 7.00% con un extracto de aceite esencial del orégano alto en timol, que adicionalmente contribuye al mejoramiento de las propiedades mecánicas del envase, que es una de las principales áreas a mejorar en este tipo de envases. Los materiales base fueron obtenidos de la siguiente manera, PS, por policondensación térmica del ácido aspártico, MC mediante tratamiento químico-mecánico de fibras de lechuguilla, AEO por arrastre por vapores y almidón de papa comercial. Las probetas se elaboraron mediante procesos de extrusión y termoconformado obteniendo charolas de forma rectangular similares a las comerciales. En ellas se colocó carne de res molida, debido a su susceptibilidad al deterioro microbiano. Se inocularon al 10% con un preparado de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, equivalentes al tubo 4 en la escala de Mc Farland. Los preparados se almacenaron a 15 °C, propiciando condiciones para el desarrollo microbiano. Se monitorearon a intervalos de 12, 24 y 72 hs, de acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Los resultados evidenciaron la capacidad del compósito PSI-ST-MC funcionalizado al 7.00% para inhibir el desarrollo de *E.coli* en un ciclo logarítmico a las 72 hs de almacenamiento. Para *S. aureus* el compósito funcionalizado al 4.50% permite una reducción de dos ciclos logarítmicos después de 24 hs y su eliminación total después de 72 hs o bien a las 24 hs en concentraciones del 6.00%. Por lo que es posible indicar que el compósito, permite una liberación prolongada y estable, y es además adecuado para su uso comercial debido a la capacidad de inhibir el desarrollo de una alta carga de microorganismos patógenos alimentarios.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF BASIL, CARDAMOM, CORIANDER SEEDS AND ROSEMARY ESSENTIAL OILS AGAINST GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIA.

Pedro Marcondes Freitas Leite¹, Karen Vanessa Munive Nuñez¹, Nathalia Cristina Cirone Silva¹

(1) State University of Campinas, Food Science, School of Food Engineering, Rua Monteiro Lobato, 80 - Cidade Universitária "Zeferino Vaz"; Campinas, Brasil

The overuse of synthetic compounds to treat and prevent diseases demonstrated the need to study new natural compounds, as essential oils. Some bacteria are the source of many foodborne diseases and shows a high risk on causing an outbreak when found in contaminated food, therefore, these natural compounds may present as an alternative to prevent the contamination by those pathogens. The aim of this study is to assess the antimicrobial activity of commercial basil (*Ocimum basilicum*), cardamom (*Elettaria cardamomum*), coriander seeds (*Coriandrum sativum*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils against strains of *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 by minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The MIC was evaluated using microbroth dilution method in brain-heart infusion (BHI), an oil concentration of 10% (v:v) and bacterial strains suspensions adjusted in 0,5 McFarland. The MBC was performed on tryptic soy agar (TSA) and the plate was analysed in growth of bacterial colonies. The basil essential oil showed higher activity against gram-positive bacteria tested (30.29 mg.mL⁻¹ for *B. cereus* and 24.87 mg.mL⁻¹ for *S. aureus*); however, it also presented activity against the other strains (39.2 mg.mL⁻¹ for *E. coli* and 33.85 mg.mL⁻¹ for *P. aeruginosa*). Rosemary oil demonstrated the same pattern as the basil, showing MICs of 31.77 mg.mL⁻¹ for *B. cereus*, 13.62 mg.mL⁻¹ for *S. aureus*, and 36.31 mg.mL⁻¹ for the others. The cardamom oil showed the higher MIC value for *B. cereus* (30.88 mg.mL⁻¹) and the same on the others strains (37.05 mg.mL⁻¹). The coriander presented different values of MIC for each strain: 14.68 mg.mL⁻¹ for *B. cereus*, 17.62 mg.mL⁻¹ for *E. coli*, 20.56 for *S. aureus* and 24.40 mg.mL⁻¹ for *P. aeruginosa*. Basil, coriander and rosemary essential oils showed bactericidal activity against *E. coli* at 36.6 mg.mL⁻¹, both, cardamom and rosemary oils presented bactericidal activity against *B. cereus* (36.6 mg.mL⁻¹). The basil oils was the only one that showed bactericidal activity against *S. aureus* (36.6 mg.mL⁻¹), and none of the oils had bactericidal activity against *P. aeruginosa*. The variation on the results shows the complexity of the oils antimicrobial activity against different bacteria, some, as basil and rosemary showed higher MIC values against the gram-positive bacteria tested, however all of them showed efficacy in inhibit microbial growth and shows potential usage as pathogen control to prevent foodborne diseases.

Financing: This study was financed by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Finance code 001(Process Number 88887.337614/2019-00)

ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE BACTERIAS LÁCTICAS EN YOGURES CON PROBIÓTICOS ELABORADOS EN PARAGUAY, COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE ASUNCIÓN

Karen Patricia Martínez Jara¹, Laura Carolina Avalos Giménez¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

El Paraguay es un país en desarrollo que en el año 2020 elaboró cerca de 70 millones de litros de yogur, número que representa únicamente a aquellas empresas asociadas a la Cámara Paraguaya de Lácteos. En el país solo son 3 las empresas registradas que producen yogures y declaran poseer probióticos. Los yogures con probióticos son alimentos funcionales que aportan beneficios al organismo, por las acciones que las bacterias lácticas ejercen sobre él. El objetivo de la investigación se centró en el recuento de bacterias ácido-lácticas viables, la cuantificación de mohos y levaduras, Coliformes Totales y *Escherichia coli*, las determinaciones de acidez, pH y temperatura de almacenamiento en el lugar de expendio; con el propósito de comprobar cómo afectan los factores analizados sobre la viabilidad de las bacterias ácido lácticas del yogur. Se estudió 90 muestras de yogures con probióticos, pertenecientes a tres marcas comerciales, los sabores analizados fueron ciruela y frutilla, adquiridos de 5 supermercados de mayor afluencia de la ciudad de Asunción. Se observó en la cadena de frío cierta precariedad, con temperaturas insuficientes para el correcto mantenimiento de la viabilidad de las bacterias lácticas y suficiente para la propagación de las bacterias contaminantes. El 91,1% de las muestras cumplían con las Normas MERCOSUR/GMC/RES N.º 47/97 para declarar al alimento como probiótico. El 63,33% de las muestras analizadas para la cuantificación de mohos y levaduras y el 31,1% para Coliformes/*E. coli* se encontraba fuera del rango permitido. La temperatura de conservación, el pH y la acidez se encontraba dentro de rango y tras la contrastación del rotulado según los requisitos de la Norma, se observó errores en las declaraciones de los etiquetados en el 16,67% de las muestras y omisiones al declarar la cepa específica de probióticos añadidos, en el 83,33% de las muestras. Solo una de las marcas evaluadas declaraba poseer Bifidobacterias como probiótico, el resto solo declara poseer "Probióticos". Según FAO/OMS (2002) en la etiqueta deberá ser especificada la cepa microbiana y su correspondiente especie, dado que el efecto probiótico es específico de cada cepa y especie.

Financing: En el Paraguay los yogures con probióticos representan una fuente económica de alimentación funcional, sin embargo; el marco regulatorio de estos alimentos es insuficiente y la difusión de los beneficios es escasa.

Estudio de la producción de conidios viables de *Penicillium* spp. mediante Fermentación en Sustrato Sólido para el potencial desarrollo de cultivos starters autóctonos

Carolina Temperini^{1,2}, Mariana Greco^{2,3}, María Luisa Franchi⁴, María Julia Marangi^{1,2}, Graciela Pose^{2,3,5}

(1) Universidad Nacional de Río Negro. Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro, Argentina

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

(3) Universidad Nacional de Quilmes, Departamento de Ciencia y Tecnología, Argentina

(4) Universidad Nacional del Centro (UNICEN), CIFICEN, Facultad de Ingeniería Olavarría (FIO), Argentina

(5) Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH) CONICET-UNSAM, Laboratorio de Micología y Cultivo de Hongos Comestibles y Medicinales., Argentina

Una de las aplicaciones más importantes de la Fermentación en Sustrato Sólido (FSS) es la producción de esporas de hongos, especialmente para embutidos o quesos azules que exigen altos rendimientos de conidios viables. En un trabajo previo, se determinó la micoflora autóctona de salamines (Carmensa, sur de Mendoza) y se la caracterizó tecnológicamente y toxicológicamente. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la producción de conidios viables por FSS de las especies predominantes halladas en los emplumes de salamines de elaboración artesanal y proponer el desarrollo de cultivos iniciadores que mantengan características regionales y permitan una elaboración artesanal de productos típicos e inocuos. Se seleccionaron tres especies predominantes no toxicogénicas: *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum* y *P. rubens*. Los sustratos fueron salvado de trigo y sorgo, seleccionados por su composición nutricional y alta disponibilidad comercial. Erlenmeyers conteniendo 30 g del sustrato con su contenido de humedad ajustado al 50% se inocularon con 1 ml de una suspensión de conidios (3×10^7 conidios/ml). Luego de 7 días de incubación a 25 °C en oscuridad se colectaron los conidios mediante el agregado de 100 ml de agua destilada estéril y agitación vigorosa. Se ajustó la concentración a 1×10^3 conidios/ml y 0,1 ml de cada suspensión fue inoculado en MEA. Luego de 5 días de incubación a 25 °C en oscuridad se registró la germinación de los conidios y se determinó su viabilidad. Se realizó un análisis de varianza y cuando se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) se realizó un análisis de comparación múltiple. Ambos sustratos naturales fueron adecuados para el crecimiento y producción de conidios de las especies de *Penicillium*. Los recuentos fúngicos estuvieron en el orden de $E+05/E+06$ conidios/g peso seco en ambos sustratos y para una misma especie no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$). Los porcentajes de viabilidad estuvieron en el rango de 31,12-84,69% en ambos sustratos, y al comparar la misma especie, se encontraron diferencias significativas sólo para *P. chrysogenum* ($p = 0.0239$). *P. chrysogenum* mostró el máximo valor de producción de conidios en salvado de trigo ($1,49E+06$) mientras que *P. brevicompactum* mostró el máximo porcentaje de viabilidad en sorgo (84,69%). Se registraron diferencias significativas entre las tres especies cultivadas sólo en salvado de trigo respecto de su producción ($p = 0.0141$) y viabilidad ($p = 0,0044$), no así en sorgo ($p > 0,05$). La técnica de FSS arrojó buenos rendimientos de conidios viables sobre sustratos económicos y de alta disponibilidad comercial para las tres especies. Esto pone en evidencia la potencialidad del desarrollo de cultivos iniciadores autóctonos. Aún así, la elección del sustrato natural más apropiado deberá basarse en la formulación del cultivo iniciador o en el posible uso de una mezcla de sustratos para maximizar el rendimiento de las especies.

Supervivencia de *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus rhamnosus* en jugo de pera durante el almacenamiento en refrigeración

Jazmin Berenice Hurtado^{1,2}, Maria Clara Tarifa^{1,2}, Facundo Iturmendi^{1,3}, Lorena Inés Brugnoni⁴

(1) Universidad Nacional de Río Negro, CIT Río Negro, Villa Regina, Río Negro, Argentina.

(2) Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro, CIT Río Negro (CONICET-UNRN), Villa Regina, Río Negro, Argentina.

(3) JUGOS S.A., Parque Industrial, Villa Regina, Río Negro, Argentina.

(4) Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR, CONICET-UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

El uso de microorganismos probióticos en matrices alimentarias no lácteas, como lo son los jugos de fruta, es un campo de investigación en creciente aumento. Estas matrices aunque prometedoras, representan un desafío ya que la acidez propia de los jugos influye en la supervivencia de estos microorganismos. Sin embargo, no es el único factor ya que la viabilidad es dependiente del microorganismo y a su vez, ciertos componentes de estas matrices podrían ejercer un efecto protector. El objetivo del trabajo fue evaluar la supervivencia de dos bacterias probióticas, *Lactobacillus casei* ATCC 393 y *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103, en jugo de pera durante 4 semanas en condiciones de refrigeración (4 ± 1 °C). Cada una de las bacterias se ensayó independientemente. En cada caso se realizaron suspensiones ajustadas de 108 UFC/ml en jugo de pera de primera extracción sin concentrar, sin conservantes y sin el agregado de azúcar. El seguimiento de la supervivencia se realizó semanalmente mediante recuento en agar MRS luego de incubarse 48 h a 37 ± 1 °C. Paralelamente se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, acidez y azúcares reductores en el jugo inoculado y sin inocular (control) en el tiempo 0 y al cabo de 2 y 4 semanas. El pH se midió con un pHmetro digital, la acidez se determinó mediante titulación frente a NaOH 0,1N utilizando azul de bromotimol como indicador de punto final (pH=7,6) y se expresó en % de ácido málico. Los azúcares reductores directos se determinaron mediante el método de Fehling, con glucosa al 0,5% p/v como patrón y expresados en % de glucosa. La supervivencia dependió de la bacteria estudiada: *L. casei* mostró un crecimiento sostenido durante las 4 semanas de ensayo de 1,83 unidades logarítmicas con respecto al t0 lo cual produjo una disminución en la concentración azúcares de 8,76 a 6,24, en el de pH de 4,06 a 3,21 y un aumento en la acidez de 0,30 a 0,88. Mientras que *L. rhamnosus* al cabo de las 4 semanas presentó un aumento de 1,19 unidades logarítmicas con respecto al t0 con una tendencia similar en cuanto a los cambios en la matriz, presentando una disminución en las concentraciones de azúcares reductores de 8,76 a 7,45, el pH se ubicó en el rango de 4,06-4,13 y la acidez aumentó de 0,29 a 0,36. Tanto *L. casei* como *L. rhamnosus* presentaron un buen perfil de supervivencia en jugo de pera en las condiciones ensayadas, con recuentos acordes a los exigidos en las legislaciones nacionales e internacionales. Esto marca un futuro promisorio hacia su implementación en matrices ácidas, representando una posibilidad de aumentar el consumo de probióticos en gran parte de la sociedad sobre todo en aquellas personas que tienen una alimentación más restringida por cuestiones de salud y/o regímenes alimentarios.

Financing: El siguiente trabajo fue financiado por el PI 40-A-779 de la Universidad Nacional de Río Negro (UNRN).

Antimicrobial resistance genes in *Streptococcus dysgalactiae* isolates from mastitis cows identified by whole genome sequence

Bruna Lourenço Crippa¹, Marjory X. Rodrigues², Ana C.C.H. Tomazi², Tiago Tomazi², Rodrigo C. Bicalho², Nathália C.C. Silva^{1,2}

(1) University of Campinas (UNICAMP), Department of Food Science, Faculty of Food Engineering (FEA), Rua Monteiro Lobato, 80, Campinas/São Paulo, Brasil

(2) Cornell University, Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, College of Veterinary Medicine, Ithaca, New York, USA

Mastitis is the most prevalent disease in dairy herds, negatively affecting animal health, milk quality and the economy of milk production. Some pathogens are responsible for causing mastitis in cattle herds, however, *Streptococcus dysgalactiae* are among the main causes. In addition, studies indicate that *Streptococcus dysgalactiae* can act as a contagious or environmental pathogen and can cause mastitis problems in the long term. The aim of this study was to conduct a thorough genetic evaluation of *Streptococcus dysgalactiae* isolated from clinical bovine mastitis (CM). The strains of *Streptococcus dysgalactiae* analyzed in this study were isolated from 35 cows with clinical mastitis and belong to the strain bank from Cornell University and was isolated from a large commercial dairy farm located near Ithaca, New York. First, confirmation of the genus and species was done by sequencing the 16S rDNA gene and then, using whole genome sequencing (WGS), twenty-six antibiotic resistance genes were identified in the strains analyzed. These genes were generally well distributed among all the strains analyzed and the WGS results showed resistance to 16 different classes of antibiotics. Having as the most prevalent classes: Peptide antibiotics, Aminoglycosides, Tetracyclines and Cycloserine. We conclude that this microorganism has a variety of resistance genes in its genetic profile and this demonstrates its potential as a cause of mastitis. This may explain the difficulty during treatment, since the isolates had several genes for resistance to the main antibiotics used against this disease.

Financing: grant # 2018/24191-3, São Paulo Research Foundation (FAPESP)

Variación en la prevalencia de los genes stx en canales bovinas uruguayas.

Lucía Trujillo¹, Paula Mussio², Santiago Ultra², Sylvia Vázquez³, Fernando Massa⁴, Juan Manuel Burghi⁵, María de la Paz Xavier⁵, Carlos Méndez³, Pablo Rovira⁶, Armando Navarro⁷, Ana María Maquiera², Inés Martínez⁸, Santiago Luzardo⁹, Gustavo Varela³

(1) Universidad de la República, Acuicultura y Patología de Organismos Acuáticos, Facultad de Veterinaria, Alberto Lasplacas 1620-11600, MONTEVIDEO, Uruguay

(2) Laboratorio Tecnológico del Uruguay, Microbiología, Av. Italia 6201 / 11500, MONTEVIDEO, Uruguay

(3) Universidad de la República, Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Alfredo Navaro 3051, MONTEVIDEO, Uruguay

(4) Universidad de la República, Instituto de Estadística, Facultad de Ciencias Económicas y de Administración, Eduardo Acevedo 1139 / 11400, MONTEVIDEO, Uruguay

(5) Instituto Nacional de Carnes, Gerencia de Contralor, Rincón 545, 11000, MONTEVIDEO, Uruguay

(6) Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria / INIA Treinta y Tres, Ruta 8, km. 281, Treinta y Tres., TREINTA Y TRES, Uruguay

(7) Universidad Autónoma de México, Salud Pública, Medicina, Av Universidad 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, DF México, México

(8) LATITUD, Fundación LATU, Av. Italia 6201, 11500, MONTEVIDEO, Uruguay

(9) Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria / INIA Tacuarembó, Ruta 5, km. 386, TACUAREMBÓ, Uruguay

Introducción La presencia de STEC en alimentos constituye un problema sanitario y económico importante. **Objetivo** Conocer la variación en la frecuencia de detección de los genes stx en medias canales bovinas, considerando factores como: categoría animal, dentición, tipo de alimentación, tipo de establecimiento, tipo de faena, época del año, presencia de pelos en la canal y aplicación de intervenciones antimicrobianas declaradas. **Metodología:** Entre agosto de 2018 y junio de 2020 se analizaron 800 medias canales con al menos 24 horas de maduración sanitaria. Las muestras se tomaron sobre toda la superficie, (interior y exterior), utilizando esponjas. El muestreo fue aleatorio y estratificado, incluyendo establecimientos de exportación y abasto; y ponderado según la participación de cada establecimiento en la faena nacional del año 2017. En el momento de la visita se obtuvieron los datos de las variables analizadas. Las esponjas se colocaron en caldo TSB modificado y se incubaron a 41°C por 22 horas. Luego se realizó la extracción de ADN y la detección de los genes stx mediante RT-PCR. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el procedimiento FREQ del Statistical Analysis System (SAS Institute, Cary, NC, versión 9.4). **Resultados** 179 (22,3%) medias canales fueron positivas para genes stx. La presencia de stx se asoció ($P \leq 0.05$) con establecimientos de abasto, establecimientos que no declararon la aplicación de ninguna intervención antimicrobiana, la categoría animal vaquillona y la presencia de pelos en la canal. **Discusión** El porcentaje global de detección de stx fue menor al obtenido en bovinos para leche y bovinos para carne en pastoreo en un estudio similar en EEUU. Para interpretar estos hallazgos hay que tener en cuenta que la prevalencia de STEC será menor que la de stx; y que la caracterización sugiere que los cultivos STEC recuperados son de poca relevancia clínica local. Los resultados indican que sería aconsejable aplicar medidas de mitigación de la contaminación microbiana en los establecimientos de abasto y validar las medidas declaradas en los establecimientos exportadores. Este trabajo pone de manifiesto la preocupación de la industria cárnica por valorar la magnitud del problema e identificar prácticas en la cadena productiva que puedan ser mejoradas.

Financing: Agencia Nacional de Investigación e Innovación, Fondo Sectorial Innovagro - Inocuidad.

Antiproliferative and antimicrobial naphthoquinone efficacy against human breast adenocarcinoma cells and foodborne pathogens

Cyntia Freitas¹, Patricia Pereira¹, Ruan Ribeiro², Fernando da Silva², Carlos Conte-Junior¹, Vitor Ferreira³, Vânia Paschoalin¹

(1) Universidade Federal Fluminense, Instituto de Química, Niterói, Brazil

(2) Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Farmácia, Niterói, Brazil

(3) Universidade Federal Fluminense - Faculdade de Farmácia - Niterói - RJ, Brazil, Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, Niterói, Brazil

Naphthoquinones belong to the phenolic class and comprise natural secondary metabolites mainly present in plants. These compounds share a common naphthalene skeleton and exhibit promising pharmacological activities. In the present study, two naphthoquinone analogues, one commercial (2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone) and the other a synthetic menadione-derivative (3-chloromethylene-menadione), were tested against a human breast adenocarcinoma cell lineage, MDA-MB-231, and pathogens of both clinical and food origin. Antiproliferative and antimicrobial efficacies were evaluated by the microdilution plate technique using resazurin as the cell viability indicator to estimate the IC₅₀ and minimal inhibitory concentrations (MIC). Toxicological tests against human breast adenocarcinoma cells revealed that, after 24 h of incubation, 3-chloromethylene-menadione exhibited a superior effect, causing complete inhibition at 0.005 mg/mL, with an IC₅₀ of 0.0025 mg/mL compared to 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone, that completely abolished tumoral cell viability at 0.01 mg/mL, with an IC₅₀ of 0.0051 mg/mL. Both compounds were shown to be efficient against all assayed Gram-positive and Gram-negative bacteria, inhibiting growth with MICs ranging from 0.039 to 1.25 mg/mL for 3-chloromethylene-menadione and from 0.02 to 2.5 mg/mL for 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone. However, 3-chloromethylene-menadione efficacy was 2-fold superior compared to 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone regarding the growth of CDC EDL-933 and CDC O55 *Escherichia coli* strains and ATCC 12325 and ATCC 299334 *Salmonella enterica* strains. Both compounds exhibited comparable inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 1458, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 and *Acinetobacter genomospecies 3*. The determined 50% inhibitory concentrations (IC₅₀) ranged from 0.01139 to 0.2942 mg/mL for 3-chloromethylene-menadione and from 0.0084 to 1.129 mg/mL for 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone. It is interesting to note that both naphthoquinone analogues exhibited an IC₅₀ value lower than 0.02 mg/mL against *S. aureus* and *A. genomospecies 3*, with inhibition concentrations lower than chloramphenicol and cephalexin. Both naphthoquinones exhibited antimicrobial activity with similar effects against bacteria of clinical and food interest and toxic effects on breast adenocarcinoma cells.

Financing: FAPERJ and CNPq

Aislamiento y caracterización de cepas de Salmonella serovar Infantis y Agona aisladas desde carne de pavo molida cruda expandida en supermercados de San Felipe y Los Andes, Chile, durante septiembre-diciembre año 2018.

Carmen Aravena Molló¹, Manuel Ponce-Alonso², Rayen Luna Pozo¹, Javiera Maturana Mahave¹, Robin Espinosa Mendez¹, Natalia Carrasco Zelaya¹, Maria Morosini Reilly², Rosa Del Campo Moreno²

(1) Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Campus San Felipe, Avenida Miraflores 2085 A, San Felipe, Chile

(2) Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio de Microbiología, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Carretera de Colmenar Km 9,1, 28034-Madrid, España

Introducción. Reportes de la OMS, (2015) estiman que Salmonella no tifoidea (SNT) causa anualmente 78,8 millones de toxiinfecciones alimentarias en el mundo. Cepas de SNT multirresistentes a los antibióticos se asocian a brotes relacionados con el consumo de productos avícolas. En Chile, la carne de pavo se expende en supermercados en distintos formatos, la carne molida cruda envasada es muy consumida y no hay estudios sobre la presencia de SNT en este producto. Y compartiendo la concepción de “Una Salud” es relevante su vigilancia, determinar la susceptibilidad antimicrobiana y sus bases moleculares. Objetivo. Determinar la prevalencia de Salmonella en carne de pavo cruda molida que se vende en supermercados en San Felipe y Los Andes (Chile), caracterizando los mecanismos de resistencia antimicrobiana, su relación clonal y determinantes de virulencia. Material y métodos. Se analizaron 47 muestras de carne de pavo molida de dos marcas comerciales adquiridas en supermercados entre septiembre-diciembre 2018. Los aislamientos se identificaron con MALDI-TOF, la serovariedad se determinó según Grimont y Weill, (2007), la susceptibilidad antimicrobiana mediante difusión con discos en agar. El genoma de cada aislado se determinó por secuenciación en MiSeq (Illumina) y análisis bioinformático con Nullarbor. Resultados. Se detectó Salmonella en 6 muestras (12,8%) correspondiendo a S. enterica serovar Infantis (n=4) y serovar Agona (n=2). Todas las cepas de S. Infantis pertenecieron al secuenciotipo (ST) 32 diferenciándose dos clones con 1 y 3 aislados; los dos aislados de S. Agona se distinguieron en ST13 y ST15. Todas las cepas de S. Infantis fueron multirresistentes, resistentes a cefalosporinas de tercera generación mediada por blaTEM y en dos clones el gen blaCTX-M-65, mientras que una cepa S. Agona portaba blaCMY-2. Otros genes de resistencia fueron tetA, tetB, florR, aac(3'), aph(3') y aph(6'). faeD/fyuA en S. Infantis y flhC/gtrA en S. Agona fueron los genes de virulencia diferenciales. Conclusiones. Alertamos de la contaminación de carne de pavo molida con SNT multirresistente a los antibióticos portadoras de blaTEM, blaCTX-M-65 y blaCMY-2 cuyo estudio genético pone de manifiesto un origen común en 3 de las 4 cepas de S. Infantis.

Financing: Fuente de financiamiento: Geropolis, Convenio de Desempeño UVA 1404, Universidad de Valparaíso, Chile.

Calidad microbiológica del agua de los centros de salud

Gladys Estigarribia^{1,2}, Cristel Kennedy², Grisel González¹, Cindy Gabriela Cabriza¹

(1) Universidad Santa Clara de Asís

(2) Universidad Nacional de Caaguazú-Instituto Regional de Investigación en Salud-Coronel Oviedo-Paraguay

Las aguas de los centros de salud son comúnmente utilizadas por trabajadores y pacientes. Para calificar como agua potable, las aguas de los centros de salud deben cumplir con los criterios microbiológicos, establecidos por el Gobierno. El objetivo de este estudio fue calificar la calidad microbiológica de las aguas de los centros de salud. Se analizaron un total de 104 muestras de agua de centros de salud de 22 distritos. Para calificar el agua, se evaluaron bacterias heterótrofas totales, 34 coliformes totales, coliformes fecales y Pseudomonas. Las muestras se sembraron en medios rehidratables y luego de su incubación, las colonias de coliformes y Pseudomonas fueron re-aisladas y sometidas a sistemas de identificación miniaturizados y otras pruebas adicionales; para la identificación de la especie. De 104 muestras, 60 (58%) calificadas como aceptables y 44 (42%) calificadas como inaceptables. Las razones por las que las muestras de agua fueron inaceptables fueron: 42% presencia de coliformes totales, 40% presencia de Pseudomonas, 13% alto conteo de bacterias heterótrofas y 12% presencia de coliformes fecales. Un alto porcentaje de muestras de agua fue calificado como inaceptable por la presencia de patógenos, por lo que se recomienda corregir el tratamiento de las aguas e intensificar los controles microbiológicos, en los centros de salud estudiados.

Financing: Universidad Santa Clara de Asís

Microbiological evaluation of mate tea sold on the beaches of the city of Rio de Janeiro

Debora Moura¹, **Gustavo Luis de Paiva Anciens Ramos**², Renan Alves Lima¹, Carenn Rodrigues e Almeida Silva¹, Lygia Maria Paulo da Silva Braga¹, Aline S. Garcia Gomes¹, Barbara Cristina Euzebio Pereira Dias de Oliveira¹, Leonardo Emanuel O. Costa¹

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Departamento de Alimentos, Rio de Janeiro, Brasil

(2) Universidade Federal Fluminense, Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Niterói, Brasil

Mate sold in barrels is a drink popularly consumed on the beaches of Rio de Janeiro and has already been the subject of controversy for sanitary reasons. The objective of this work was to evaluate the microbiological quality of this product, and for this, the quantification of thermotolerant coliforms, aerobic mesophilic bacteria, molds and yeasts, isolation of *Escherichia coli*, and detection of *Salmonella* was performed, as described by the Brazilian sanitary legislation. A total of 23 samples were analyzed. Only one sample presented values above the established limit for aerobic mesophilic counts, while for molds and yeasts, 10 samples presented counts above the limit, according to the WHO. For thermotolerant coliforms, seven samples had a limit above that established in the legislation. Of the total, 12 samples would be out of compliance considering the parameters of Brazilian legislation and/or WHO. Ninety-seven bacterial isolates were obtained, and among these, the most prevalent Gram-negative was *Klebsiella pneumoniae* (44%). After evaluating antimicrobial resistance, only five isolates did not show resistance, while 57 were multiresistant. With the data obtained, it is possible to conclude that more attention is needed from health authorities in the guidance, training and inspection of street vendors to ensure food safety and the consequent health of consumers.

COMUNIDADES BACTERIANAS EN PRODUCTO ARTESANAL FERMENTADO: "CHAMPÚS", ELABORADO EN REGIONES DE NARIÑO - COLOMBIA

Yuli Stephany López Cadena¹, Francia Elena Valencia Garcia², Natalia Restrepo Escobar³

(1) Grupo de investigación Biotransformación, Maestría en alimentos, Facultad de ciencias químicas y agropecuarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

(2) Grupo de investigación Biotransformación, Escuela de microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

(3) Grupo de Investigación en Gerencia y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, Centro de Servicios y Gestión Empresarial. Servicio Nacional de Aprendizaje, Medellín, Colombia

El "Champús", un alimento fermentado a base de maíz, originario de Latinoamérica, es una bebida o postre tradicional que se consume en países como Colombia, Ecuador y Perú, presenta un sabor característico entre dulce y ácido con un bajo contenido de alcohol. Generalmente está elaborado a base de cereales ya sea maíz, trigo o la mezcla de estos, puede llevar entre sus ingredientes fruta piña o lulo, Miel de panela, especias como canela, clavo, vainilla, y plantas aromáticas. Este trabajo evaluó la calidad microbiológica, fisicoquímica, bromatológica y el microbiota presente en Champús durante el proceso de fermentación natural en el ambiente donde se produce. Para ello, durante la elaboración de dos lotes de 5 productores locales de Champús se tomaron muestras en diferentes etapas de proceso, evaluando pH, acidez titulable y microorganismos fermentadores como Bacterias ácido lácticas y levaduras que fueron caracterizadas e identificadas mediante técnicas moleculares dependientes de cultivo. Al producto terminado se le evaluó microorganismos indicadores de calidad higiénica, concentración de ácidos orgánicos y carbohidratos simples, análisis bromatológico, humedad y color. Como resultado, se encontró que la región donde se produce el Champús presenta una temperatura y humedad relativa de $16.5 \pm 2.56^\circ\text{C}$ y $61.6 \pm 9.14\%$ respectivamente. Los productos terminados alcanzaron en promedio un pH de 3.85 ± 0.26 con una acidez titulable de $0.49 \pm 0.23\%$ AL g/mL y se evidenció la presencia de metabolitos como ácidos orgánicos (Láctico, acético y propiónico) y etanol, productos de la fermentación de azúcares disponibles como glucosa y maltosa obtenidos de la hidrólisis del almidón en el maíz, ocasionada por la prevalencia de bacterias ácido lácticas y levaduras durante todo el proceso. Adicionalmente, se observó que el Champús es una fuente rica en calcio y fósforo (321.2 ± 111.52 y 119.2 ± 73.97 mg/Kg), y presenta aminoácidos libres (0.68 ± 0.23 mM). Por otra parte, el color tuvo un predominio hacia las tonalidades amarillas con baja luminosidad y finalmente el análisis sensorial evidenció que la intensidad de los descriptores estuvo por debajo de 6,15, donde los panelistas resaltaron descriptores como olores apanelado, agrio y especiado y sabores ácidos y panela miel. La identificación dependiente de cultivo analizando fragmentos de entre 600 y 1000 pb del ADNr 16S mostró la presencia de bacterias lácticas de los géneros *Weissella*, *Leuconostoc* y *Lactobacillus* y las levaduras se encontraron presentes durante todo el proceso aislándose 12 cepas con características fenotípicas diferentes. En el producto terminado se evidenció que indicadores como coliformes totales sobrepasaron los criterios de calidad higiénico sanitaria permitidos evidenciándose crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Esta información evidenció la variabilidad y poca estandarización de proceso y sirve como base para proponer un plan de mejora para pequeños productores y al mismo tiempo hacer estudios más detallados sobre la microbiota nativa y su relación con las variables fisicoquímicas del champús.

Financing: Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia contrato 304 de 2018 y cuenta con acceso a recursos genéticos y subproductos derivados contrato No 0126 del 13 de mayo de 2016 expediente RGE156-8 del Minambiente.

Relation of clinical mastitis with the count of Colony Forming Units (CFU) of *Staphylococcus* spp.

Jaqueline Milagres de Almeida¹, Giovana Rueda Barboza¹, Roberto Kappes², Clarice Gebara³, André Thaler Neto², Nathalia Cristina Cirone Silva¹

(1) State University of Campinas (UNICAMP), Department of Food Science, Faculty of Food Engineering, Campinas, Brasil

(2) University of the State of Santa Catarina, Department of Animal and Food Production, Center for Agricultural Sciences, Lages, Brasil

(3) Federal University of Goiás, Food Research Center, School of Veterinary and Animal Science, Brasil

Raw milk is a perishable food, and because it has a high amount of water, nutrients, and a pH close to neutrality, it becomes a good product for the growth and multiplication of a wide variety of microorganisms, mainly psychrotrophic, thermophilic, spoilage, lactic acid bacteria, which they quickly acidify raw milk and pathogens, which cause disease and are involved in bovine mastitis. Poor quality milk compromises the entire chain, from its nutritional value to problems in processing and production, causing significant economic losses. Mastitis is characterized by an inflammation of the mammary glands caused mainly by bacteria of the *Staphylococcus* spp. that invade the channel from the ceiling. It can be classified as subclinical and clinical. Subclinical mastitis causes imperceptible changes in milk, which can only be identified through microbiological tests. In contrast, clinical mastitis, in turn, is readily detectable in milk through the observation of lumps, clots, the presence of blood and pus. The objective of this work was to observe the relationship of mastitis with the CFU.mL⁻¹ count of lactic acid bacteria and the total count in blood agar. A total of 131 raw milk samples were collected from 3 farms in the state of Santa Catarina. The samples were inoculated on blood agar incubated at 37°C for 24h and on MRS agar incubated at 37°C for 72h, after which the colony count was performed. In this study, it can be observed that most samples were healthy, with 42% of the total according to the Somatic Cell count. This group had a low count of CFU.mL⁻¹, with a mean interval of 10² - 10³ CFU.mL⁻¹ on both agars, which shows greater care on these farms, ensuring better milk quality. However, one should still be concerned because 24% of clinical samples and 33% of subclinical samples. The subclinical samples showed an average range of 10² to greater than 10³ CFU.mL⁻¹, having several uncountable samples. The subclinical samples had a mean interval of 10² - 10³ CFU.mL⁻¹. Thus, it is observed that the amount of CFU.mL⁻¹ in clinical samples is lower than in subclinical ones, this is probably due to the application of antibiotics in clinical samples as they are treated immediately to avoid economic losses.

Financing: Fapesp 2019/17308-4

MEDIO CRIOPROTECTOR A BASE DE JUGO DE YACÓN PARA CEPAS DE UN CULTIVO INICIADOR CÁRNICO

Noelia Palavecino Prpich^{1,2}, Nadia Galante^{1,2}, Ernesto Sanabria¹, **María Elisa Cayré**¹, Marcela Castro^{1,2}

(1) Universidad Nacional del Chaco Austral, Departamento de Ciencias Básicas y Aplicadas, Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Comandante Fernández 755, Presidencia Roque Sáenz Peña, Chaco

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

Para prevenir daños celulares durante la liofilización pueden emplearse sustancias crioprotectoras tales como carbohidratos, proteínas y polímeros. Las raíces de yacón están constituidas mayormente por agua y carbohidratos (azúcares simples y fructooligosacáridos), característica que las posicionan como una buena alternativa para la conservación de cultivos microbianos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el uso de jugo de yacón como crioprotector para la liofilización de *Lactobacillus sakei* ACU-2 y *Staphylococcus vitulinus* ACU-10, cepas componentes de un cultivo iniciador autóctono para productos cárnicos. El medio crioprotector se preparó a base de jugo fresco de yacón el cual se clarificó por filtración, y se centrifugó a 4000 rpm. El sobrenadante libre de sólidos fue diluido al 10 % (v/v) con agua destilada y esterilizado en autoclave a 121°C durante 15 min antes de su uso. Después de 12 horas de crecimiento de *L. sakei* en caldo MRS a 30°C y *S. vitulinus* en caldo BHI a 37°C, las células se cosecharon por centrifugación a 4°C y se resuspendieron en jugo de yacón al 10% y en agua destilada (control). Las suspensiones se congelaron a -80°C durante 24 horas y se liofilizaron a -30°C y 10 Pa por 48 horas. El número de células viables se determinó mediante recuento en placa antes e inmediatamente después de la liofilización y la tasa de supervivencia (TS) fue expresada como porcentaje de la población inicial. Después del proceso de secado, se determinó la actividad de agua (aw) de los liofilizados y su apariencia externa fue examinada usando Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). La estabilidad de los liofilizados durante el almacenamiento a 4°C se determinó por recuento en placa a los 60, 120 y 180 días de almacenamiento. En jugo de yacón la TS fue elevada: 91,1% para *L. sakei* y 65,8% para *S. vitulinus*, mientras que en agua destilada fue menor al 20%, evidenciando el efecto protector del jugo de yacón. Dicho efecto podría ser atribuido tanto a los azúcares simples como a los fructooligosacáridos presentes en el jugo de yacón. La MEB permitió corroborar este efecto mostrando que los cultivos liofilizados en agua estaban dispersos, más sueltos que los cultivos liofilizados en jugo de yacón y, en este medio, las células microbianas no fueron claramente visualizadas, asumiéndose que las mismas estarían ocultas dentro de la matriz vítrea. La aw de los liofilizados fue baja ($0,311 \pm 0,001$ para *L. sakei* y $0,289 \pm 0,015$ para *S. vitulinus*). Una alta viabilidad junto con una baja aw normalmente se consideran como indicadores de buena calidad de los cultivos liofilizados. La reducción de la viabilidad celular después de 180 días el almacenamiento fue de 0,77 ciclos logarítmicos para *L. sakei* y de 1,65 para *S. vitulinus*, evidenciando una menor estabilidad de los estafilococos. A pesar de esta diferencia, la viabilidad residual de ambos cultivos fue alta ($>7,00$ UFC/ml). Estos resultados sugieren que el uso de jugo de yacón podría ser útil como medio protector durante la liofilización y el almacenamiento de las cepas componentes del cultivo iniciador autóctono.

Financing: PI N°69 y 97-UNCAUS, PIP N°_112-201301-00078 CONICET.

DETECCION DE COLIFORMES TOTALES Y E. COLI EN CULTIVOS HIDROPONICOS DE LECHUGAS EN EL DISTRITO DE ENCARNACION

Sofia Benitez¹, Arlene Rojas¹

(1) Universidad del Norte, Itapua, Medicina, Avenida Irrazabal, Encarnación, Paraguay

La detección de Coliformes totales y *Escherichia coli* en lechugas hidropónicas por medio del cultivo en placas Petrifilm determina la presencia o ausencia de contaminación mediante el recuento de las unidades formadoras de colonias por gramo. Este dato es de suma importancia para los cultivadores como para los consumidores mismos ya que al ser hortalizas de consumo fresco existe una mayor predisposición al desarrollo de Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA) como, por ejemplo, la gastroenteritis. El objetivo de este trabajo se basa en determinar la presencia de coliformes totales y *E. coli* a través del método de cultivo en las lechugas hidropónicas de invernaderos ubicados en el distrito de Encarnación, correspondiente al departamento de Itapúa durante los meses de enero a marzo del 2021, con una población primaria y muestra conformada por lotes de lechugas (25 gramos) correspondiente a 6 centros de producción hidropónica y otra secundaria conformada por personas responsables de los mismos centros, a través del muestreo no probabilístico, de carácter explorativa y del tipo descriptivo, el enfoque utilizado fue el mixto con la aplicación del diseño Explicativo Secuencial (DEXPLIS) que permitió recabar y analizar los datos cuantitativos y cualitativos para su posterior interpretación, concluyendo que de los 30 (100%) lotes de lechuga se obtuvo un total de 25 (83%) muestras con presencia de coliformes y solamente 5 (17%) de ellas estuvieron libre de contaminación. Mientras que, en relación a *E. coli* 7 (23%) lotes presentaron crecimiento en los cultivos. Palabras claves: Coliformes totales, *Escherichia coli*, contaminación, enfermedades de transmisión alimentaria, lechugas hidropónicas.

Financing: Recursos propios.

PERCEPCIÓN DE LOS CONSUMIDORES DE AGUA EMBOTELLADA CON RELACIÓN A SU CALIDAD

Romina Irala¹, Pasionaria Ramos¹

(1) Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Asunción (FCQ - UNA), Programa de Especialización en Ciencias de los Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario de San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay

Introducción: la calidad percibida, es el juicio que hace un consumidor sobre un alimento y determina la decisión para comprarlo. Algunos de los factores que influyen son; la composición del producto y la información que provee el elaborador. Por lo tanto, en algunos casos la calidad percibida por los consumidores no constituye la calidad real del producto. **Objetivo:** Describir la percepción de los consumidores de agua embotellada con relación a su calidad. **Materiales y métodos:** estudio observacional, descriptivo, de corte transversal, temporalmente prospectivo. El ámbito geográfico fue todo el país, y el ámbito temporal fue el mes de octubre de 2020. El muestreo fue no probabilístico por conveniencia. Fue elaborado un cuestionario con preguntas relacionadas a las características demográficas de los consumidores y sus hábitos de consumo, la cual fue enviada electrónicamente. El criterio de inclusión fueron todos aquellos consumidores de agua embotellada en envases descartables y retornables, que hayan aceptado participar del estudio. Fueron respetados los criterios éticos en cuanto a la confidencialidad de la información y el consentimiento informado. **Resultados:** Fueron encuestados 215 consumidores. El 52,1% (112) fueron del sexo femenino, 54,8% eran menores de 30 años, el 22,3% (48) tenían edades comprendidas entre 20 y 24 años. El 26,5% (57) residían en Lambaré, y el 62,3% (134) contaban con estudios universitarios. El 93,5% (201) refirieron consumir agua embotellada y de estos, 81,5% (167) consumían agua mineral. El 73,0% (149) consume agua embotellada porque está libre de contaminantes y es de alta calidad, 22,1% (45) consume porque el agua de grifo tiene mal sabor. El 93,8% (196) cree que el agua embotellada que consume es de buena calidad y confiable y 95,3% (202) conoce las consecuencias en la salud que ocasiona el consumo de agua contaminada. El 98,1% (208) recomendaría el consumo de agua embotellada. El 73,0% (154) se fija en la etiqueta del agua embotellada, y, de estos, el 76,8% (126) encontró en la etiqueta toda la información que buscó. El 63,3% (133) no conocía el tratamiento del agua que consume, 56,9% (120) realizaba la compra del agua con una frecuencia semanal. El 50,6% (44) de los hombres utilizaban ambos tipos de envases (descartables y retornables). Las mujeres compraban con mayor frecuencia de manera semanal y mensual. Las mujeres se fijaban en el precio (50%, 38), marca (54,8%, 40) y composición (52,5%, 21). **Conclusión:** La percepción de la calidad del agua embotellada es alta e influye la mala calidad que los consumidores perciben del agua de grifo. **Palabras clave:** agua embotellada, consumidores, calidad, percepción.

Financing: No se recibió financiamiento

Estudo da qualidade microbiológica de leite cru e da resistência antimicrobiana de Enterobacteriaceae e Staphylococcus spp.

Juliana Souza Alves¹, Rossiane de Moura Souza², Alice Gonçalves Martins Gonzalez¹

(1) Universidade Federal Fluminense (UFF), Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, R. Dr. Mario Vianna, 523, Niterói, Brasil

(2) Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO), Centro Estadual de Pesquisa em Sanidade Animal, Alameda São Boaventura, 770, Niterói, Brasil

O leite cru é um substrato ideal para o desenvolvimento de microrganismos. Sua qualidade e segurança dependem, entre outros fatores, das boas práticas na ordenha e da saúde animal, influenciando a qualidade de seus derivados. Para assegurar a qualidade do leite cru são seguidas regulamentações que estabelecem a contagem de bactérias aeróbias mesófilas (BAM), que compõe a maioria dos patógenos, e a contagem de células somáticas (CCS), que reflete a saúde das glândulas mamárias do plantel. Este estudo objetivou avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado e do leite cru recém ordenhado de três fazendas das mesorregiões Sul e Noroeste Fluminense, e ainda, avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos das Enterobacteriaceae e Staphylococcus spp. isolados. As amostras de leite cru refrigerado apresentaram CCS entre $4,85 \times 10^5$ e $1,1 \times 10^6$ CS/mL e contagem de BAM entre $1,0 \times 10^3$ e $8,0 \times 10^7$ UFC/mL. Apenas uma (33,33%) fazenda atendeu aos padrões vigentes quanto aos indicadores de qualidade microbiológica do leite cru refrigerado. As amostras de leite cru recém ordenhado apresentaram contagem de coliformes e E. coli entre $1,0 \times 10$ e $>3,0 \times 10^3$ UFC/mL e de Staphylococcus aureus entre $1,0 \times 10$ e $1,1 \times 10^4$ UFC/mL. Os isolados identificados como Enterobacteriaceae e Staphylococcus spp., através da Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF), foram investigados quanto ao perfil fenotípico de resistência a antimicrobianos. Enterobacteriaceae revelaram-se majoritariamente resistentes à Ampicilina (73%), 4,55% apresentaram fenótipo sugestivo de produção de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) e 27,27% apresentaram fenótipo sugestivo de produção de carbapenemase; além disso, 27,27% apresentaram perfil de multi-droga resistência (MDR). Staphylococcus spp. revelaram-se majoritariamente resistentes à penicilina G (78%) e 13,04% apresentaram fenótipo MDR. Além disso, um isolado identificado como Staphylococcus aureus apresentou resistência à metilina (MRSA). O leite cru produzido nas fazendas estudadas pode oferecer risco potencial à saúde do consumidor, sendo também um importante veículo de Enterobacteriaceae e Staphylococcus spp. resistentes a antimicrobianos.

Financing: CAPES

Comparative genomics and antibiotic resistance of *Yersinia enterocolitica* obtained from a pork production chain and human clinical cases in Brazil

Bruna Torres Furtado Martins¹, João Luiz Meirelles³, Wellington Pine Omori³, Rafael R. Oliveira³, Ricardo Seiti Yamatogi¹, Douglas Ruben Call², **Luís Augusto Nero**^{1,2}

(1) Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, Campus Viçosa, s/n, Centro, 36570 900, Viçosa, MG, Brazil

(2) Washington State University, Paul G. Allen School for Global Health, College of Veterinary Medicine, 1155 NE College Ave, 99164, Pullman, WA, USA

(3) Neoprosperta, Av. Luiz Boiteux Piazza, 1302 - Canasvieiras, 88056 000, Florianópolis - SC, Brazil

Previous work found a high similarity of macro-restriction patterns for isolates of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 obtained at a pork production chain from Minas Gerais, Brazil. Herein we aimed to determine the clonality and the antibiotic resistance profiles of a subset of these isolates ($n = 23$) and human clinical isolates ($n = 3$). Analysis of whole genome sequence data showed that the isolates were distributed into two major clades based on single nucleotide polymorphisms (SNP) with one isolate defining Clade A (isolate R31) and remaining isolates ($n = 25$, 96.2%) defining Clade B. Seven clonal groups were identified. The inclusion of isolate R31 as a distinct clonal group was due to the presence of several phage-related genes, allowing its characterization as serotype O:5 by WGS. Disk-diffusion assays (14 antibiotics) identified 13 multidrug resistant isolates (50.0%). Subsequent sequence analysis identified 17 different antibiotic resistance related genes. The majority of isolates exhibited resistance to cephalosporins, but no corresponding beta lactamase gene was identified. The close genetic relationship among *Y. enterocolitica* obtained from a pork production chain and clinical samples of humans in Brazil was confirmed, and we can highlight the role of swine in the potential transmission of an antibiotic-resistant clones of a pathogenic bio-serotype to humans, or the transmission of these resistant bacteria from people to animals. The role of veterinary antibiotic use in this process is unclear.

Financing: CAPES, CNPq, FAPEMIG, FUNARBE

Caracterización de recubrimientos nanoestructurados de quitosano y extracto vegetal de *Byrsonima crassifolia* y su evaluación sobre el control bacteriano en tomates almacenados

Johana Gutiérrez-Molina¹, María Luisa Corona-Rangel², Rosa Isela Ventura-Aguilar³, Laura Leticia Barrera-Necha², Silvia Bautista-Baños², **Zormy Nacary Correa-Pacheco³**

(1) Universidad Tecnológica de Tecámac, Carretera Federal México-Pachuca km 37.5, Predio Sierra Hermosa, Tecámac, C.P. 55740, Estado de México, México

(2) Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, Interacciones Planta-Insecto, Carretera Yauatepec-Jojutla, km 6, calle CEPROBI, No. 8, San Isidro, C.P 62731, Yauatepec, Morelos, México

(3) CONACYT-Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, Interacciones Planta-Insecto, Carretera Yauatepec-Jojutla, km 6, calle CEPROBI, No. 8, San Isidro, C.P 62731, Yauatepec, Morelos, México

En la actualidad, debido al daño al medio ambiente y salud, el uso de pesticidas sintéticos para conservar productos hortofrutícolas ha generado la búsqueda de nuevas alternativas como la aplicación de recubrimientos comestibles y empaques biodegradables. En este trabajo, se presenta la evaluación de la actividad antibacteriana de recubrimientos nanoestructurados de quitosano y extracto vegetal de *Byrsonima crassifolia* (nanche) sobre la incidencia y severidad en *Pectobacterium carotovorum* y el análisis microbiológico para frutos de tomate almacenados durante 19 días a una temperatura de 10 ± 1 °C y humedad relativa de c.a. 89%. Mediante microscopía electrónica de transmisión se observó el tamaño de las nanopartículas de entre 2.72 y 4.17 nm. La distribución de tamaño por dispersión dinámica de luz fue bimodal para las nanopartículas de quitosano (NQ) con valores de 3.7-8.5 nm y 60-120 nm y unimodal para las nanopartículas de quitosano adicionadas con extracto vegetal de nanche (NN) entre 90-1200 nm. Posteriormente, se prepararon dos recubrimientos, uno basado en NQ y otro en NN con el método de nanoprecipitación en una concentración de 30% de nanopartículas, glicerol (0.3%) y quitosano base al 1% (69.7%). El espesor del recubrimiento mediante microscopía óptica fue entre 52-58 μm . Para el estudio microbiológico, se incluyó un control negativo (tomate sin inocular) y uno positivo (tomate inoculado). Al término del período de almacenamiento, la incidencia de *P. carotovorum* fue de 51% para ambos recubrimientos, 60% para el control negativo y 73% para el control positivo. La severidad fue entre el 76-100%. El análisis microbiológico mostró un incremento de las unidades formadoras de colonia (UFC) después de 48 h al final del período de almacenamiento. La menor cantidad de UFC fue en los tomates tratados con el recubrimiento NQ (1708) seguida del control negativo (2724), el control positivo (2760) y finalmente, el recubrimiento NN (4635). Por lo tanto, el uso del recubrimiento NQ presentó la mejor alternativa de conservación de los tomates contra *P. carotovorum*. Sin embargo, al usar agentes bioactivos como extractos vegetales o aceites esenciales, se debe optimizar la formulación tomando en cuenta la concentración, compuestos activos e interacciones para lograr un recubrimiento efectivo en la extensión del tiempo de vida útil de productos hortofrutícolas.

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE UNA CEPA COMPONENTE DE UN CULTIVO STARTER CÁRNICO. EFECTO DE LA FUENTE DE NITRÓGENO

Nadia Galante^{1,2}, Noelia Palavecino Prpich^{1,2}, **María Elisa Cayré**¹, Marcela Castro^{1,2}

(1) Universidad Nacional del Chaco Austral, Departamento de Ciencias Básicas y Complementarias, Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Comandante Fernández 755, Presidencia Roque Sáenz Peña, Argentina

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

La cepa *Lactobacillus sakei* ACU-2 ha sido aislada de un salami artesanal de Chaco (Argentina) y seleccionada por sus características tecnológicas para diseñar un cultivo iniciador autóctono denominado SAS-1. Al evaluarse a escala industrial, este cultivo mejoró las características de seguridad y calidad de los salamines producidos, sin modificar negativamente el perfil sensorial típico. En los últimos años se ha incrementado la popularidad de los productos artesanales, y su producción se ha propuesto como una estrategia de desarrollo para las economías regionales; consecuentemente, la aplicación del cultivo SAS-1 a la línea de producción de salamines regionales podría representar una ventaja competitiva para este tipo de productos. En este contexto, surge la necesidad de producir los microorganismos involucrados en el SAS-1 en una mayor escala, para lo cual se deben optimizar las condiciones de cultivo que permitan el mayor rendimiento en biomasa. Como parte del proceso de optimización, en este trabajo se evaluó el efecto de diferentes fuentes de nitrógeno sobre el crecimiento de *L. sakei* ACU-2 con la finalidad de seleccionar aquellas con mayor influencia sobre la producción de biomasa aplicando la metodología OVAT (one variable at time). Se utilizó la composición del caldo MRS como medio basal, el cual se suplementó con 25 g/L de diferentes fuentes de nitrógeno: peptona de soja (PS), peptona de carne (PC), triptona (T), extracto de levadura (EL), extracto de carne (EC) y concentrado de proteínas de lactosuero (WPC). Una vez inoculados, los medios se incubaron a 30 °C por 24 h. El crecimiento microbiano se monitoreó mediante los cambios en la densidad óptica a 600 nm. Los datos obtenidos se utilizaron para ajustar la ecuación modificada de Gompertz y estimar los parámetros cinéticos de crecimiento. Además, se determinó el recuento de viables (LogUFC/ml) en fase estacionaria. Los ensayos se realizaron por duplicado y el efecto de la fuente de nitrógeno se evaluó por medio de ANOVA. Aunque *L. sakei* ACU-2 fue capaz de crecer bajo todas las condiciones ensayadas, los parámetros cinéticos estimados y el recuento de viables variaron de acuerdo con la fuente de nitrógeno utilizada. Las velocidades específicas de crecimiento en presencia de EC ($0,43 \pm 0,02$ h⁻¹) y PS ($0,33 \pm 0,02$ h⁻¹) fueron significativamente más altas que las obtenidas en presencia de las otras fuentes de nitrógeno y no difirieron de la obtenida en caldo MRS ($0,42 \pm 0,04$ h⁻¹). En presencia de WPC ($0,11 \pm 0,02$ h⁻¹) y T ($0,19 \pm 0,03$ h⁻¹) -como únicas fuentes de nitrógeno- se obtuvieron las velocidades más bajas. No se detectaron diferencias significativas entre los recuentos obtenidos en PS, PC, EC y caldo MRS los cuales alcanzaron valores entre $8,68 \pm 0,01$ y $8,81 \pm 0,18$ Log UFC/ml en fase estacionaria. Los recuentos en WPC ($7,45 \pm 0,02$ Log UFC/ml) y T ($8,17 \pm 0,20$ Log UFC/ml) fueron significativamente más bajos, evidenciando una mayor dificultad del microorganismo para desarrollarse sobre estas fuentes de nitrógeno. Según estos resultados, PS y EC se seleccionaron como fuente de nitrógeno para proseguir con la optimización de la producción de biomasa de *L. sakei* ACU-2, las cuales serán ensayadas en diferentes concentraciones y combinaciones.

Financing: PI N°69 y 97 UNCAUS - PIP N° N°_112-201301-00078 CONICET

Antimicrobial Activity of Essential Oils Against *Staphylococcus aureus* from Subclinical Bovine Mastitis with Different Profiles of Genes Encoding MSCRAMMs and Biofilm Formation

Karen Vanessa Munive Nuñez¹, Anderson Clayton Da Silva Abreu¹, Jaqueline Milagres de Almeida¹, Marcos Veiga dos Santos², Juliano Leonel Gonçalves³, Nathalia Cristina Cirone Silva¹

(1) Department of Food Science, School of Food Engineering, State University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil

(2) Department of Animal Nutrition and Production, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brazil

(3) Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Michigan State University, East Lansing, USA

Bovine mastitis is the most common and expensive disease in cattle herds worldwide. Contagious pathogens such as *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) have frequently been isolated from subclinical mastitis (SM) in the State of São Paulo – Brazil. *S. aureus* has different virulence factors and survival strategies to persist and defeat host defenses, such as adhesion capacity and biofilm formation. Essential oils (EOs) are promising antimicrobial agents, which can be used as alternative therapies to conventional antibiotics. This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of EOs against strains of *S. aureus* causing SM with different profiles of MSCRAMMs and biofilm formation genes. A total of 57 *S. aureus* SM-causing strains were obtained from six herds in the State of São Paulo – Brazil. Conventional PCR was performed for all strains to identify the presence of genes involved in biofilm formation: *icaA*, *icaD*, and *bap*; and genes encoding the MSCRAMMS adhesins: *clfA*, *clfB*, *fnbA*, *fnbB*, *fib*, *cna*, *eno*, *ebps*, and *bbp*. Fifteen strains with different genetic profiles were selected, and the bacterial suspensions were inoculated in a final concentration of 10³ CFU/mL to perform the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of nine different EOs (clove - *Eugenia caryophyllus*, basil - *Ocimum basilicum*, spearmint - *Mentha spicata*, bergamot - *Citrus aurantium bergamia*, arrayan - *Luma chequeen*, copaiba - *Copaifera reticulata*, fennel - *Foeniculum vulgare*, ginger - *Zingiber officinale*, and muna - *Minthostachys mollis*). The five most effective EOs were clove, basil, spearmint, bergamot, and arrayan, exhibiting the mean values of all the strains for MIC / MBC = 1.35/1.59, 4.17/5.62, 4.09/5.03, 5.68/7.33, 4.88/6.97 mg/mL, respectively. Overall, EOs of copaiba, fennel, ginger, and muna, had less antimicrobial activity. These results support EOs can be a possible active compound choice for avoiding SM-causing *S. aureus*. Future studies should be undertaken to evaluate the pharmacokinetics and cytotoxicity of EOs. **Keywords:** antimicrobial agents, minimum inhibitory concentration, polymerase chain reaction

Financing: CNPq - National Counsel of Technological and Scientific Development, Process number 141320/2018-4.

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA FRUTÍCOLA COMO SUSTRATO DE CRECIMIENTO DE *Lactobacillus rhamnosus*

María Clara Tarifa^{1,2}, Jazmín Berenice Hurtado^{1,2}, Felipe Rocha Parra^{1,2}, Natalia Bongiovani¹, Diego Rocha Parra^{1,2}, Juan Laiglecia¹, Facundo Iturmendi^{1,3}

(1) Universidad Nacional de Río Negro, CIT Río Negro, Río Negro, Argentina.

(2) Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro, CIT Río Negro (CONICET-UNRN), Villa Regina, Río Negro, Argentina.

(3) JUGOS S.A., Parque Industrial, Villa Regina, Río Negro, Argentina.

En las últimas dos décadas el mercado de alimentos probióticos ha aumentado considerablemente siendo los géneros de bacterias más utilizados *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Sin embargo, una de las limitaciones para su uso a nivel industrial es el elevado costo de los medios de cultivo que satisfacen los complejos requerimientos nutricionales de este tipo de bacterias como por ejemplo el medio de Man, Rogosa y Sharpe (MRS). Teniendo en cuenta los modelos de economía circular, la utilización de sustratos alternativos de bajo costo tales como subproductos de frutas, han tenido un interés creciente debido a su composición rica en hidratos de carbono, minerales, fibras y compuestos bioactivos como polifenoles, que contribuyen al crecimiento. Considerando que el Alto Valle de Río Negro en la Patagonia Argentina concentra el 85% de la producción de manzanas del país y que posee un polo agroindustrial destinado principalmente a la elaboración de jugo y sidra se evaluó el potencial de subproductos derivados de la industrialización de la manzana para ser reutilizados como matriz de crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103. Para la formulación de los medios se utilizaron orujos de la industria sidrera (OS) y juguera (OJ), los cuales fueron previamente deshidratados en estufa de convección forzada ($50 \pm 1^\circ\text{C}$) hasta peso constante, molidos y esterilizados (121°C –15 min). Tanto a OS como a OJ se le realizaron los siguientes análisis: hidratos de carbono (azúcares reductores por método de Fehling), proteínas totales (método Kjeldahl), grasas totales (método Soxhlet) además de polifenoles totales (método de Folin-Ciocalteu) y la determinación de actividad agua (aw). Se partió de un inóculo de 106 UFC/ml de *L. rhamnosus* en: (i) medio basal compuesto por orujo de sidra (MBOS) o jugo (MBOJ) al 10% p/v, (ii) MBOS y MBOJ + 0,5% p/v de extracto de levadura y (iii) MRS caldo (control positivo). El crecimiento se siguió por recuento en placa a lo largo de 24 h en agar MRS (48 h a $37 \pm 1^\circ\text{C}$). Se encontraron diferencias en la composición de los medios base utilizados, donde MBOS presentó un 27,13% azúcares reductores, 3,06% proteínas totales, 0,87% grasas y 5,97 mg/g de polifenoles totales con respecto a MBOJ con 38,26% de azúcares reductores, 1,96% proteínas totales, 1,08% grasas y 5,01 mg/g de polifenoles totales. El aw de ambos fue de 0,44 y 0,43 respectivamente. Al cabo de 24 h *L. rhamnosus* en MBOS+extracto de levadura alcanzó niveles de 7,57 log UFC/ml, 1,65 unidades logarítmicas por debajo del MRS, seguido por MBOJ+extracto de levadura y MBOS con recuentos de 5,31 y 4,08 log UFC/ml respectivamente, mientras que los niveles alcanzados en MBOJ fueron menores a 2,00 log UFC/ml. El aprovechamiento de los subproductos derivados de la industrialización de la manzana como matriz de soporte de bacterias lácticas presenta un gran potencial siendo un sustrato de bajo costo y gran disponibilidad. Si bien el agregado de extracto de levadura representó una mejora considerable en el crecimiento, se plantea a futuro la necesidad de optimizar la formulación de manera de alcanzar valores semejantes a los obtenidos en medios comerciales.

Financing: El siguiente trabajo fue financiado por el PI 40-A-779 de la Universidad Nacional de Río Negro (UNRN).

Efecto del consumo del probiótico *Lactobacillus fermentum* UCO-979C en peso, masa grasa, masa magra, circunferencia de la cintura y hábitos alimenticios.

Romina Carvajal¹, Cristian Parra¹, Paola Carrión², Kimberly Sánchez¹, Cristian Gutiérrez¹, Katia Sáez³, Apolinaria García¹

(1) Universidad de Concepción, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Concepción, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Concepción, Chile

(3) Universidad de Concepción, Departamento de Estadística, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Concepción, Chile

El papel de la microbiota intestinal residente del cuerpo humano ha sido ampliamente estudiado debido al rol que cumple en diversas funciones vitales de nuestro organismo, como es el caso de la regulación metabólica. Recientes investigaciones asociadas al consumo de probióticos han evaluado su participación en la modulación de la microbiota intestinal en condiciones de disbiosis, la reducción del aporte energético obtenido de los alimentos y la modificación del peso corporal. En particular, la cepa *Lactobacillus fermentum* UCO-979C, es una cepa de origen gástrico humano que presenta excelentes propiedades probióticas y que ha sido ampliamente estudiada tanto *in vitro* como *in vivo*. Este trabajo constituye el primer estudio de la cepa probiótica en humanos y tuvo como objetivo principal evaluar el efecto del consumo de la cepa *L. fermentum* UCO-979C en el peso, el porcentaje de masa grasa, masa magra, circunferencia de la cintura y hábitos alimenticios de un grupo de adultos jóvenes de la Universidad de Concepción, Chile. Para ello, se realizó un estudio aleatorio, doble ciego, controlado con placebo, durante 12 semanas por el periodo del año 2018. Se reclutaron 104 estudiantes universitarios y se dividieron en dos grupos. El grupo intervenido ($n=58$) consumió una gelatina que contenía la cepa probiótica, mientras que el grupo control ($n=46$) consumió una gelatina placebo. Las variables monitoreadas fueron los hábitos alimenticios y la composición corporal. Éstas se evaluaron al comienzo y al final de la intervención. Para los análisis estadísticos se utilizó la prueba de Chi-cuadrado, donde los valores de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos. De acuerdo con los resultados, no se observó diferencias significativas después de 12 semanas entre el grupo control y el grupo intervenido en peso, porcentaje de masa grasa, masa magra y circunferencia de la cintura, pero sí se observaron diferencias significativas en los hábitos alimenticios. A la semana 12 el grupo intervenido mostró un aumento muy significativo de la masa magra ($p < 0,0002$) y un mayor consumo de productos lácteos ($p < 0,002$) y frutas ($p < 0,031$) respecto al inicio del estudio. También se observó diferencias significativas entre ambos grupos en el ítem desayuno ($p < 0.044$), donde el grupo intervenido aumentó ligeramente el consumo de alimentos en el desayuno mientras que el grupo control lo redujo. Como conclusión, el consumo del probiótico no modificó ni el peso ni la composición corporal, pero sí modificó los hábitos alimenticios, aumentando el consumo del desayuno, frutas y productos lácteos, por lo que el consumo de la cepa probiótica *L. fermentum* UCO-979C podría ser recomendada en la población para potenciar sus hábitos saludables, sin embargo, se requieren estudios para evaluar los mecanismos asociados a estas propiedades y sus potenciales beneficios a largo plazo.

Financing: Este trabajo fue financiado por el Proyecto Corfo 14IDL2-29744, Innova-Chile (Chile).

Influence of the presence of *Staphylococcus* related to the formation of mastitis in cow's udder, in dairy products in the state of Paraíba – Brazil

Karen Vanessa Munive Nuñez¹, Rafaela Martins Morasi¹, Giovana Rueda Barboza¹, Mônica Correia Gonçalves², Clarice Gebara³, Nathalia Cristina Cirone Silva¹

(1) Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, São Paulo, Brasil

(2) Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Campina Grande, Paraíba, Brasil

(3) Universidade Federal de Goiás, Centro de Pesquisa em Alimentos, Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia, Brasil

Milk is a nutrient-rich food providing growth for different microorganisms. Mastitis is an inflammation of the cow's teat, which impairs production, causing economic losses, and contaminates the milk. It can be caused by different pathogens, depending on the environment and factors inherent to the animal. The objective of this work was to observe the relationship of mastitis with lactic acid bacteria count (LAB) and total blood agar count. Milk samples were collected in the state of Paraíba in 5 farms, totaling 54 samples for this study. 12% of the samples were from clinical mastitis, 76% from subclinical and 12% from healthy cows (CCS < 200,000). For microorganism count, 0.1mL of the samples were inoculated in blood agar and incubated at 37°C for 24h, as well as 1mL of the samples and their dilutions were inoculated in MRS agar and incubated at 37°C for 72h. Milk samples from healthy cows had a mean count lower than 10² CFU.mL⁻¹ on both agars. The subclinical samples showed the highest average count in Colony Forming Units (CFU), ranging from 10² to the highest 10³ CFU.mL⁻¹ in the two agars. An interesting fact is the observation of similar counts in both MRS and blood agar, even when we observe counts below 10 CFU.mL⁻¹ (detection limit) in MRS agar, the same is observed in blood agar, suggesting possible residue of inhibitors in the sample. Clinical samples presented MRS counts with an interval of 10¹ – 10³ CFU.mL⁻¹, and total blood agar counts ranging between 10² and 10³ CFU.mL⁻¹. Thus, we observed that clinical mastitis samples had lower lactic acid bacteria counts than subclinical samples, this may be due to pathogen inhibitors that can compete with lactic acid bacteria.

Financing: FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - 2019/17308-4

Characterization of psychrotrophic bacteria isolated from Brazilian organic dairy products

Cíntia A. Rabêlo¹, **Gustavo Luis de Paiva Anciens Ramos**², Marina Ricardo¹, Julia A. Porfírio¹, Tatiana C. Pimentel³, Janaína dos Santos Nascimento¹, Leonardo Emanuel O. Costa¹

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Departamento de Alimentos, Rio de Janeiro, Brasil

(2) Universidade Federal Fluminense, Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Niterói, Brasil

(3) Instituto Federal do Paraná, Paranavaí, Brasil

Organic milk and dairy products have gained increasing visibility in the market, due to the growing appeal for natural products. Although psychrotrophic bacteria, extremely associated with milk, are susceptible to heat treatments, there is a technological concern related to the production of heat-resistant deteriorating enzymes, in addition to the possible formation of biofilm. The count of psychrotrophic bacteria and the profile of Gram-negative bacteria present in Brazilian commercial organic dairy products (27 samples of pasteurized whole milk, Minas Frescal cheese and yogurt, equally distributed) were evaluated. Furthermore, the capacity to produce biofilm and the production of deteriorating enzymes were observed. Most samples (59%) had psychrotrophic bacteria counts greater than 4 log CFU/g, indicating problems in the microbiological quality of the products. The identification of Gram-negative bacteria revealed the presence of microorganisms of clinical or technological importance in the food area (39.4% *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*, 23.2% *Burkholderia pseudomallei*, 10.1% *Hafnia alvei*, 6.1% *Pseudomonas aeruginosa*), with the capacity of producing proteases (36.4%), lecithinases (41.4%), and lipases (4%). Approximately 68.7% of the microorganisms were non-biofilm producers, 28.3% were medium biofilm producers and 3.0% were high biofilm producers. The findings suggest that there are problems related to good practices in obtaining organic milk and in the manufacture of dairy products, indicating the need for greater inspection of this group of products at the national level.

Actividad antimicrobiana de mieles de abejas nativas sin aguijón (meliponas) en biopelículas

Fausto Cabezas-Mera¹, Irina Villacrés-Granda^{2,3}, José Álvarez-Suárez⁴, Antónío Machado¹, Eduardo Tejera⁵

(1) Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Instituto de Microbiología, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales (COCIBA), Quito, Ecuador

(2) Universidad de Las Américas (UDLA), AgroScience & Food Research Group, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Quito, Ecuador

(3) Universidad de Sevilla, Programa de Doctorado Interuniversitario en Ciencias de la Salud, Sevilla, España

(4) Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Departamento de Ingeniería en Alimentos, Colegio de Ciencias e Ingenierías, Quito, Ecuador

(5) Universidad de Las Américas (UDLA), Grupo de Bioquimioinformática, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias Aplicadas, Quito, Ecuador

La producción de miel de abejas meliponas es muy reducida, en comparación con la de abejas melíferas (Género *Apis*), por lo que su uso está más direccionado a fines medicinales que alimenticios. Las propiedades intrínsecas de la miel tales como un bajo pH, una alta osmolaridad, una actividad de agua baja y ciertos compuestos antioxidantes (todavía poco conocidos) inhiben el crecimiento de varios microorganismos, incluyendo hongos y levaduras^{1,2}. En estudios recientes, se ha visto que la miel de abejas meliponas ejerce un gran efecto antimicrobiano frente *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*, en comparación con la miel de abejas con aguijón incluso en cepas multidrogoresistentes³ y varias especies de hongos de importancia clínica^{4–6} y agrícola⁷. Sin embargo, poco se conoce del impacto sobre biopelículas, que frecuentemente se encuentran asociadas a cuadros infecciosos más virulentos y resistentes a las terapias convencionales, especialmente en pacientes diabéticos, con heridas y quemaduras. Se han descritos algunos posibles péptidos bioactivos relacionados^{1,8,9}, pero los mecanismos involucrados aún se desconocen. En nuestro estudio, evaluamos diez muestras de miel provenientes de meliponarios artesanales de las provincias de Tungurahua, Pastaza, El Oro y Los Ríos en Ecuador, siendo producidas por 4 especies de abejas: *Cephalotrigona* sp., *Melipona cromptoni*, *Scaptotrigona problanca* y *Tetragonisca angustula*. Las muestras con una concentración de 15% se mezclaron con inóculos 0.5 McFarland de diferentes microorganismos y se incubaron por 24 horas a 37°C con agitación continua. Los microorganismos evaluados fueron *K. pneumoniae* (ATCC y KPC), *S. aureus* (ATCC y MRSA) y *C. tropicalis*. Las biopelículas fueron cuantificadas a través de la formación de biomasa a las 24 horas por ensayos colorimétricos con cristal violeta al 1% a una longitud de onda de 630 nm. Se utilizó dos controles, específicamente un control positivo (solo inóculo) y un control osmótico negativo (miel artificial). Todos los ensayos fueron realizados en triplicados. Los resultados preliminares muestran una mayor inhibición en la formación de biopelículas de *C. tropicalis*, mayor al 70%, que en biofilms de *K. pneumoniae* y *S. aureus*. Además, que la miel producida por *Melipona cromptoni* y *Scaptotrigona problanca* fueron las más efectivas contra *C. tropicalis*, ambas cepas de *K. pneumoniae*, y la cepa ATCC de *S. aureus*. En relación con la *S. aureus* MRSA, la miel más efectiva fue la producida por *Melipona cromptoni*, aunque este microorganismo presentó mayor tasa de resistencia al efecto la miel.

Financing: This work is supported by Chancellor Grants 2019 and COCIBA research budget from Universidad San Francisco de Quito, under the Project ID: 16801 entitled "Characterization of single and mixed Biofilms".

MICROBIOLOGÍA EN AGRICULTURA

Especies de *Rhizoctonia* identificadas en manchado de vainas foliares de arroz de la variedad IRGA 424

Lidia Quintana Viedma¹, Susana Gutiérrez², Diego Arriola², Aldo Ortiz¹

(1) Universidad Nacional de Itapúa, Investigación y Extensión

(2) Universidad Nacional del Nordeste, Protección Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Juan Bautista Cabral 2131, Corrientes, Argentina

En monitoreos realizados en los años 2017-2018 en campos comerciales de arroz del Paraguay, se observaron síntomas de manchado en vainas foliares de plantas de arroz en la variedad IRGA 424. Con el objetivo de caracterizar la enfermedad, se colectaron 200 muestras de plantas de arroz de la variedad en estudio. Las muestras (vainas foliares) fueron analizadas a simple vista y bajo microscopio estereoscópico a fin de detectar la presencia del hongo; se prepararon asimismo cámaras húmedas con trozos de tejido infectado y siembras in vitro del material en estudio en medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA). Posteriormente, se procedió a la caracterización morfométrica y cultural del mismo, complementando con pruebas de patogenicidad en plantas adultas de arroz de la variedad IRGA 424 de 60 días de edad colocando discos de inóculo sobre las vainas foliares de dichas plantas. En las muestras de vainas foliares colocadas en cámara húmeda, desarrollaron micelio y esclerocios en la cara interna de dichas vainas. Como resultado de las siembras in vitro, se observaron dos tipos de colonias con características culturales diferentes: una colonia de crecimiento rápido, cubriendo la superficie de la caja de Petri en 48 horas, con micelio aéreo chato, con formación de masas amorfas de esclerocios de color salmón; en tanto en otras siembras in vitro desarrollaron colonias con micelio aéreo, algodonoso, de color castaño claro, pero con formación de esclerocios globosos a irregulares, de color castaño oscuro. Dichas características se asocian a dos especies del género *Rhizoctonia*: *oryzae* y *solani* respectivamente. Las características morfométricas de ambas especies (hifas, células monilioides y esclerocios) fueron coincidentes con lo reportado por la bibliografía consultada. Las inoculaciones realizadas con ambas especies de *Rhizoctonia*, reprodujeron los síntomas característicos de la enfermedad.

Financing: PROCIENCIA, CONACYT

Evaluación de la susceptibilidad de cultivares de importancia comercial a la Bacteriosis y Necrosis Apical Marrón del nogal

María Julia Marangi^{1,3}, Carolina Temperini^{1,3}, Mariana Greco^{2,3}, Alejandro Pardo^{2,3}, Graciela Pose^{2,3,4}

(1) Universidad Nacional de Río Negro. Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro, Argentina

(2) Universidad Nacional de Quilmes, Departamento de Ciencia y Tecnología. Instituto de Microbiología Básica y Aplicada, Laboratorio de Micología Molecular, Argentina

(3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

(4) Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH)-CONICET-UNSAM, Laboratorio de Micología y Cultivo de Hongos Comestibles y Medicinales, Argentina

La Bacteriosis y la Necrosis Apical Marrón (NAM), causadas por *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, provocan caída prematura de nueces, acusando importantes pérdidas al sector productor. En el caso de NAM, la bacteria ha sido hallada en asociación a especies de *Alternaria*, particularmente *A. tenuissima* en Argentina. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la susceptibilidad de las variedades Chandler, Franquette y Tularé respecto a la infección causada por *X. arboricola* pv. *juglandis* y *A. tenuissima*, de forma individual y conjunta. Frutos sanos fueron recolectados, aproximadamente, 40 días después del cuaje. Luego de una desinfección superficial, fueron inoculados en la zona ecuatorial y en el extremo estigmático utilizando una cepa de cada patógeno aisladas a partir de nueces lesionadas. En relación a *X. arboricola*, los frutos fueron heridos a escasa profundidad, utilizando una aguja estéril impregnada con cultivo bacteriano crecido por 4 días en medio Agar Nutritivo. Respecto al hongo, círculos de 5 mm de diámetro fueron extraídos de colonias crecidas por 7 días en medio Agar Papa Dextrosa, y se colocaron sobre la superficie de los frutos. Para las pruebas combinadas, la bacteria se inoculó de la forma descrita, y sobre la herida anterior se colocó el círculo de la colonia fúngica. Cada prueba se realizó empleando 4 a 7 frutos de cada variedad. Los controles negativos se inocularon con agua destilada estéril. Los frutos inoculados se colocaron individualmente en frascos de vidrio y se incubaron a 25°C, en cámara húmeda. Los diámetros de las lesiones fueron medidos a los 15 días. Luego, se realizó el corte de los frutos para evaluar el progreso de las lesiones hacia el interior, utilizando los siguientes índices de infección: 1) Necrosis afectando el exocarpo, 2) Necrosis afectando el mesocarpo, 3) Necrosis afectando el endocarpo, 4) Necrosis alcanzando la semilla. Todos los frutos inoculados indujeron síntomas típicos de Bacteriosis y NAM en comparación con los controles negativos y los microorganismos se re-aislaron a partir del tejido infectado siguiendo los postulados de Koch. No se detectaron diferencias significativas en el grado de las lesiones producidas por *X. arboricola* sobre el extremo estigmático. Sin embargo, al observar la zona ecuatorial, Chandler resultó la variedad más afectada. Respecto a las lesiones producidas por *A. tenuissima* y la combinación de ambos microorganismos, Tularé se comportó como la variedad más sensible, sin detectarse diferencias significativas entre las demás. En todos los casos, las lesiones generadas por el hongo correspondieron al índice 1 y las causadas por la bacteria al índice 2. La combinación de ambos microorganismos produjo lesiones de índices 2, 3 y 4. Así, los frutos de las variedades Chandler y Tularé resultaron más susceptibles a las patologías del nogal que los correspondientes a Franquette. Si bien estos resultados no pueden extrapolarse directamente a campo, ya que la susceptibilidad a las infecciones en condiciones ambientales naturales depende de muchos factores, presentan información sobre el potencial que poseen los frutos de un determinado cultivar de ser afectados por estas patologías en condiciones ambientales favorables.

Efecto de la pared celular de *Macrophomina phaseolina* sobre la secreción de metabolitos de *Trichoderma harzianum*

Alberto A. Cubilla Ríos¹, Ma. Cristina Romero-Rodríguez¹, Ma. Eugenia Flores-Giubi¹, Javier E. Barua Chamorro¹
(1) Universidad Nacional de Asunción, Química-Biológica, Ciencias Química, Campus Universitario-San Lorenzo.
Ruta Mariscal Estigarribia Km 11, San Lorenzo, Paraguay

Introducción: Los hongos del género *Trichoderma* son bien conocidos por actuar como agente de control biológico contra una gran cantidad de fitopatógenos nativos del suelo. Se ha comprobado que *Trichoderma harzianum* es capaz de controlar el crecimiento de *Macrophomina phaseolina* que es el fitopatógeno causante de la enfermedad conocida como podredumbre carbonosa de la raíz y el tallo, este fitopatógeno es capaz de afectar a más de 500 especies de plantas, incluyendo distintas especies de importancia económica. *Trichoderma* es capaz de producir una gran variedad de metabolitos con actividad biológica, por lo que se ha planteado evaluar el efecto de la pared celular de *M. phaseolina* sobre la secreción de metabolitos de *T. harzianum*, para evaluar la implicancia de las moléculas en el biocontrol. **Materiales y Métodos:** Se utilizó la cepa de *T. harzianum* T34 (CECT2413) y la pared celular de un aislado nativo de *Macrophomina phaseolina*, que se obtuvo mediante rotura del micelio con perlas de vidrio y sucesivos pasos de sonicación y lavado para eliminar el contenido intracelular del micelio. Se inoculó *T. harzianum* en medio de cultivo papa dextrosa caldo (PDB) con y sin suplemento de pared celular, como control se utilizó medio sin inóculo de *T. harzianum*, se incubó a 25°C en agitación y oscuridad durante 60 horas. Posterior a esto se procedió a la separación del micelio y el medio líquido mediante filtración. Se realizó la extracción de los metabolitos del filtrado mediante partición líquido-líquido con acetato de etilo. El extracto orgánico fue pesado para registrar el rendimiento de la extracción orgánica y cada condición se analizó mediante cromatografía en capa delgada (CCD), HPLC-UV y UPLC-MS/MS. **Resultados** Mediante CCD se pudo evidenciar una diferencia en los perfiles de manchas revelados con luz UV a 254 nm entre las condiciones de crecimiento, tanto en presencia como en ausencia de pared celular de *M. phaseolina*. Los cromatogramas de HPLC-UV presentaron diferencias en la intensidad de los picos detectados con los mismos tiempos de retención entre las dos condiciones de crecimiento. La búsqueda dirigida de metabolitos producidos por *T. harzianum* teniendo en cuenta los datos de relación masa/carga (m/z) descritos en la literatura, permitió detectar una diferencia cuantitativa en la producción del compuesto T39 butenolida con m/z 221, encontrándose mayor cantidad en la producción de la condición de crecimiento sin suplemento de pared celular. **Conclusiones** Mediante los distintos análisis cromatográficos de los extractos orgánicos obtenidos de las condiciones de cultivo analizada, se pudo determinar que la pared celular de *M. phaseolina* es capaz de ejercer un cambio en la producción de metabolitos secretados al medio de cultivo por parte de *T. harzianum* en las condiciones estudiadas.

Financing: Proyecto 14-INV-194 Identificación y caracterización químico-biológica de aislados de *Trichoderma* spp. de Paraguay

Perfil de sensibilidad de *Fusarium proliferatum* a fungicidas de uso convencional

Belén Corallo¹, María Oliver¹, Agustina del Palacio¹, Susana Tiscornia¹, Dinorah Pan¹

(1) Instituto de Biología, Sección Micología, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay

Las especies de *Fusarium* se encuentran entre los patógenos más comunes que afectan a cultivos agrícolas en todo el mundo. En *Sorghum bicolor* L. Moench, especies del complejo *Fusarium fujikuroi* (FFSC) ocasionan importantes pérdidas económicas debido a que producen daños a nivel de tallo y de granos generando una disminución en el rendimiento del cultivo y menor calidad de la semilla. Además, muchas especies son capaces de producir en el grano metabolitos secundarios tóxicos (micotoxinas) por lo que generan un riesgo para la salud humana y animal. Usualmente, se aplican fungicidas para limitar la gravedad de la enfermedad ocasionada por *Fusarium* spp. y la contaminación por micotoxinas. Debido a la ocurrencia de cepas con resistencia a fungicidas, es importante conocer el perfil de sensibilidad de las poblaciones locales de *Fusarium* para generar medidas de control eficientes y contribuir al uso racional de fungicidas. El objetivo de este estudio fue evaluar el perfil de sensibilidad de cepas de *F. proliferatum*, aisladas de granos de sorgo, a fungicidas convencionales (epoxiconazol, carbendazim, tebuconazol y metconazol). Para ello, se analizaron 168 muestras de granos de sorgo de diferentes regiones del Uruguay correspondientes a dos años. Las especies de *Fusarium* spp. fueron aisladas e identificadas por métodos morfológicos y moleculares. Se seleccionaron 10 aislamientos de *F. proliferatum* de cada año y se inoculó un disco de micelio en placas Petri que contenían Agar Papa Dextrosa (PDA) y diferentes concentraciones de los fungicidas (0.05; 0.25; 0.75 y 1.5 mgL⁻¹). Se midió el diámetro de crecimiento micelial diariamente. Se realizaron tres réplicas por tratamiento. Placas sin fungicida fueron utilizadas como control. La sensibilidad se determinó para cada fungicida como la concentración que inhibe el 50% del crecimiento micelial (MIC50) de cada aislamiento. Se obtuvieron 609 aislamientos pertenecientes al complejo FFSC, de las cuales 202 fueron identificadas molecularmente como *F. proliferatum* (30%), *F. andiyazi* (22%), *F. fujikuroi* (21%), *F. thapsinum* (17%), *F. verticillioides* (5%) y *F. subglutinans* (5%). Todos los fungicidas redujeron el crecimiento micelial de *F. proliferatum* en las concentraciones 1.5 y 0.75 mgL⁻¹. Se observaron diferencias en el crecimiento entre las cepas de *F. proliferatum* según las diferentes dosis con los diferentes fungicidas. Los valores de MIC50 del 76% de las cepas con epoxiconazol se encontraron entre 0,25 y 0,75 mgL⁻¹. El valor de MIC50 de carbendazim en las cepas analizadas varió entre 0,25 y 1,5 mgL⁻¹, siendo de 0,75 mgL⁻¹ para el 81% de las cepas. Con tebuconazol el 86% de las cepas presentó una MIC50 entre 0,25 y 0,75 mgL⁻¹. Metconazol fue el fungicida más eficaz para reducir el crecimiento micelial a la concentración más baja (61% de las cepas), los valores de MIC50 variaron entre 0,05 y mayor a 1,5 mgL⁻¹. Si bien la mayoría de las cepas fueron sensibles a los fungicidas probados, se obtuvieron cepas con sensibilidad disminuida. Estos resultados muestran la importancia de analizar el perfil de sensibilidad de las poblaciones locales para seleccionar fungicidas y poder establecer un plan eficiente de control de la enfermedad.

Financing: ANII; Proyecto Fondo Sectorial Innovagro-Inocuidad 2017

El papel funcional de las bacterias lácticas como inoculantes para silos de alfalfa a través de un meta-análisis de ensayos aleatorios controlados

Jesica Blajman¹, Gabriel Vinderola³, Roxana Páez², Marcelo Signorini¹

(1) Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA - CONICET), Ruta 34 Km. 227, Rafaela, Argentina

(2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Rafaela, Ruta 34 Km. 227, Rafaela, Argentina

(3) Instituto de Lactología Industrial (UNL - CONICET), Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Argentina

El empleo de inoculantes para silos permite controlar y dirigir la fermentación microbiana en el material vegetal. Esto redundará en una mayor calidad del alimento, estabilidad aeróbica y receptibilidad por parte del ganado. El objetivo de este meta-análisis fue evaluar el efecto de la inoculación con bacterias lácticas (BAL) y analizar las diferencias entre inoculantes homofermentativos (HoBAL) y heterofermentativos (HeBAL) respecto a la calidad fermentativa y nutricional, la composición microbiológica y la estabilidad aeróbica de silos de alfalfa. Los criterios de inclusión fueron: ensayos controlados aleatorizados, empleando silos de alfalfa inoculados con BAL y no inoculados, publicados en revistas científicas con referato entre 1980 y 2018. El análisis estadístico fue efectuado mediante el programa Comprehensive Meta Analysis versión 2.2 (2011). El nivel de significancia estadística se estableció en $P \leq 0,05$. Cuarenta y ocho estudios fueron incorporados para evaluar el alcance de las BAL sobre los parámetros que inciden en la calidad de los silos de alfalfa. Los resultados globales indicaron que la suplementación con BAL disminuyó significativamente el pH, la fibra detergente neutro (FDN), la fibra de detergente ácido (FDA) y el nitrógeno amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$), mientras que aumentó la materia seca (MS) y la proteína cruda (PC) en comparación con los controles. Además, la inoculación incrementó las concentraciones de lactato y redujo el etanol, acetato, propionato y butirato. Asimismo, los inoculantes disminuyeron los recuentos de levaduras y mohos y mejoraron la estabilidad aeróbica. En el análisis por subgrupos, solamente las HoBAL redujeron la FDN, la FDA, las concentraciones de etanol, acetato y butirato, a la vez que aumentaron el contenido de MS y PC en comparación con el ensilado no tratado. Por su parte, las HeBAL aumentaron las concentraciones de acetato. La inoculación de ambos tipos de BAL incrementó el lactato, disminuyó el pH, el $\text{NH}_3\text{-N}$, el propionato, el número de mohos y levaduras. En conclusión, el efecto de los inoculantes puede variar dependiendo de la administración de HoBAL o HeBAL. Más estudios deben conducirse para examinar el impacto de la adición de BAL en silos de alfalfa sobre la presencia de micotoxinas, la digestibilidad y la performance animal.

Financing: Esta investigación fue financiada por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, Argentina) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (FONCYT, Argentina), Proyectos PICT-2017-0665 y PICT-2016-0256.

Evaluación de la susceptibilidad a fungicidas comerciales de hongos fitopatógenos asociados a frutales caducifolios con necrosis y momificación

Yeina Samantha Pulido-Porras¹, Martha Benavides Rozo³, Astrid Maribel Aguilera Becerra¹, Ingrid Rocio Fonseca-Guerra²

(1) Universidad de Boyacá, Ciencias Básicas, Ciencias de la Salud, Carrera 2ª Este No. 64 - 169, Tunja, Colombia

(2) Universidad de Boyacá, Biología y Microbiología, Ciencias e Ingeniería, Carrera 2ª Este No. 64 - 169, Tunja, Colombia

(3) Universidad Santo Tomás, Ciencias Básicas, Cl. 19 #11-64, Tunja, Colombia

Las buenas prácticas empleadas en la agricultura son más eficientes cuando se desarrollan de manera integral, contribuyendo a mejorar la seguridad alimentaria, aumentar los ingresos para la población rural y reducir la pobreza. La fruticultura es de gran importancia para la economía tanto a nivel nacional como internacional, se caracteriza por la producción de cultivos caducifolios como *Malus domestica* (manzano), *Pyrus communis* (peral), *Prunus pérsica* (duraznero) y *P. domestica* (ciruelo), cuyo mayor factor limitante para su producción es la presencia de fitopatógenos que afectan la totalidad del frutal en todas sus etapas fenológicas, provocando la reducción en el rendimiento de las cosechas y el desmejoramiento de la calidad del producto. Por esta razón, se requieren estudios que permitan una identificación precisa y el establecimiento de planes de prevención y control efectivos, reduciendo los riesgos del uso de agroquímicos y garantizando la sostenibilidad de los sistemas agrícolas y ecosistemas. El objetivo de esta investigación, fue evaluar la susceptibilidad a fungicidas comerciales de hongos fitopatógenos aislados de frutales caducifolios en el departamento de Boyacá, Colombia. El muestreo fue realizado en cultivos de *M. domestica*, *P. communis*, *P. pérsica* y *P. domestica* en fase de producción, donde se recolectaron muestras de raíces, tallo basal y medio, ramas apicales, hojas y de suelo rizosférico, con el cual se realizaron diluciones seriadas hasta 10⁻⁵. Los segmentos vegetales previamente desinfectados con hipoclorito comercial 5% y etanol 70%, fueron cultivados en agar PDA durante 7-15 días a 28°C, purificados por microcultivo y cultivo monospórico e identificados molecularmente por medio de PCR y secuenciación utilizando los cebadores de ADN ITS, ITS1F e ITS4R. Para las pruebas de susceptibilidad, se llevó a cabo la metodología de difusión en agar usando pesticidas con principio activo: validamicina 30g/L, yodo 132,0g/L, Metil-2-benzimidazol carbamato 500g/L, difeconazol 250g/L, cloruro de benzalconio amonio cuaternario 200g/L y metiram 700 g/kg. Se probaron 3 tratamientos usando la concentración recomendada por el fabricante y 50% más diluida o concentrada. En placas de PDA, con pozos previamente perforados, se agregaron 80µL de cada tratamiento y del testigo (agua destilada estéril). La incubación se realizó durante 7-15 días a 28°C o hasta el crecimiento del control para la medición de los halos de inhibición. Las especies identificadas, correspondieron a *Fusarium oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. solani*, *F. venenatum*, *Alternaria alternata* y *Epicoccum* sp. Las pruebas de susceptibilidad permitieron evidenciar que la concentración efectiva necesaria para reducir el crecimiento micelial hasta un 70% de especies del género *Fusarium* es de concentraciones 50% más concentradas de fungicidas con principio activo metil-2-benzimidazol carbamato 500g/L, en comparación con *A. alternata* que necesita concentraciones 50% más concentradas de fungicidas con principio activo difeconazol 250g/L para lograr hasta un 63% de inhibición micelial, y *Epicoccum* sp. cuya concentración efectiva necesaria para reducir su crecimiento micelial al 70% se logra con concentraciones recomendadas de fungicidas con principio activo difeconazol 250g/L, los demás tratamientos no fueron efectivos por lo que se evidencia la necesidad de realizar estas pruebas antes de la aplicación indiscriminada de fungicidas con sus efectos nocivos.

Financing: Universidad de Boyacá

Interacciones sinérgicas en la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de limón y naranja en combinación con aceite esencial de menta, contra *Streptomyces scabiei*

María Cecilia Prieto¹, Carolina Merlo^{2,3}, Mariela Archilla³, Enrique Lucini³, Claudia Mariana Asensio^{2,3}, Nelson Rubén Grosso^{2,3}

(1) Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE - UNNE) CONICET, Sargento Juan Bautista Cabral 2131, Corrientes, Argentina

(2) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV-UNC) CONICET, Córdoba, Argentina

(3) Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC), Felix A. Marrone 746, Córdoba, Argentina

La sarna común de la papa (SCP) es una enfermedad que genera grandes pérdidas económicas, cuyo principal agente causal es *Streptomyces scabiei*. Se ha demostrado que los aceites esenciales (AEs) de limón, naranja, orégano y menta presentan actividad antibacteriana contra bacterias gram-positivas. Sin embargo, el efecto de la interacción entre estos AEs sobre su actividad antibacteriana ha sido poco estudiado. El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad antibacteriana de la combinación de AEs de limón (*Citrus limon*) (AEL) y naranja (*Citrus sinensis*) (AEN) con AEs de orégano (*Origanum vulgare* spp. *hirtum*) (AEO) y menta (*Mentha x piperita*) (AEM), contra *S. scabiei*. La cepa de *S. scabiei* utilizada fue aislada de la localidad de Córdoba (Argentina). Los AEs fueron analizados mediante CG-MS. La actividad antibacteriana de los AEs y sus combinaciones (AEL: AEO; AEL: AEM; AEN: AEO; AEN: AEM) realizadas en las relaciones 1:1 y 3:1 fueron estudiadas mediante la técnica de microdilución en caldo, para obtener la concentración inhibitoria mínima (CIM). Los valores de CIM fueron utilizados para calcular el índice de concentración inhibitoria fraccional (CIF), en donde un CIF < 0,5 indica sinergismo; 0,5 < CIF < 1 efecto aditivo; 1 < CIF < 4 indiferencia y CIF > 4 antagonismo. El AEL resultó compuesto por limoneno (47,37%), α -citral (18,45 %) y β -citral (15,95%), el AEN por limoneno (96,64%), el AEO por trans-sabineno hidrato (18,61%) y timol (18,06%), y el AEM por mentol (40,12%) y mentona (24,17%). Las combinaciones de AEL y AEO presentaron un efecto aditivo tanto para la relación 1:1 como 3:1 (CIF: 0,88 y 0,88; respectivamente), al igual que las combinaciones 1:1 y 3:1 para la combinación AEN:AEO (CIF: 0,73 y 0,99; respectivamente). Las combinaciones AEL: AEM y AEN: AEM, en la proporción 1:1 presentaron interacciones sinérgicas (CIF: 0,44 y 0,41; respectivamente). La combinación AEL: AEM en la relación 3:1 mostró un efecto aditivo (CIF: 0,52), mientras que la combinación AEN: AEM en esa relación resultó indiferente (CIF: 1,18). Se concluye que AEL y AEN mejoran su bioactividad contra *S. scabiei* al combinarlos con AEM, utilizándolos en las proporciones adecuadas.

Financing: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN BIOFUNGICIDA MULTIBACTERIANO PARA EL CONTROL DEL HONGO FITOPATÓGENO *Botrytis cinerea* EN VIDES, MANZANAS, CEREZAS Y ARANDANOS.

Alvaro Moya Ulloa¹, Felipe González¹, Camila Santos¹, Bernardo Latorre¹, Andrea Mahn¹, Antonio Castillo¹
(1) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Química y Biología, Avenida Libertador Bernardo O'Higgins, Estación Central, Región Metropolitana, Santiago, Chile

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno que infecta a un gran número de especies vegetales de gran importancia económica, incluyendo árboles frutales, plantas ornamentales y hortalizas. Este hongo produce una enfermedad conocida como Pudrición Gris lo que genera un grave problema en pre- y postcosecha en frutillas, frambuesas, manzanas, cerezas, arándanos, peras, castañas, kiwi y vides, entre otros frutos importantes. En el presente estudio se realizaron bioensayos de protección en manzanas, arándanos, cerezas, bayas y racimos de uva cv. Superior y cv. Red Globe, para evaluar la eficacia de un biofungicida tribacteriano, cuyo principio activo corresponde a tres cepas de las especies bacterianas *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas protegens* y *Stenotrophomonas rhizophila*. En los bioensayos en frutas, se observó que la formulación tribacteriana fue capaz de proteger con mayor eficacia el daño causado por el hongo fitopatógeno sobre el tejido vegetal, comparado con el producto comercial Serenade de Bayer CropScience, actualmente utilizado para el control de *B. cinerea*, mientras que la formulación tribacteriana presentó una eficacia comparable a la obtenida con el fungicida químico Teldor. Además, se optimizaron los parámetros de crecimiento, temperatura y pH, para la producción de las suspensiones bacterianas de la formulación y su posterior escalamiento, obteniéndose niveles óptimos de crecimiento a 30°C y pH 6.0, para la cepa de *Pseudomonas protegens*, mientras que para las cepas bacterianas *Bacillus amyloliquefaciens* y *Stenotrophomonas rhizophila*, los parámetros óptimos fueron 30°C y pH 7.0. Los resultados son promisorios y la formulación biofungicida tribacteriana podría ser una interesante alternativa como agente de control biológico de este importante hongo fitopatógeno.

Financing: Trabajo financiado por el Proyecto FONDEF IDEA ID15I20589

Effect of the application of *Trichoderma harzianum* Rifai (A-34) on the productive performance of *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

Esli Lobaina¹, Siannah María Más Diego², Marcela Carvajal Tocornal¹, Michael Seeger Pfeiffer¹

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Valparaíso, Chile

(2) Universidad de Oriente, Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA), Santiago de Cuba, Cuba

The present investigation was developed in the Agricultural Extension, Research and Training Unit of the province of Holguín, Cuba (UEICA-H), in order to evaluate the effect of the application of *Trichoderma harzianum* Rifai (A-34) on the productive yield of varieties (IPA 206 and IPA 207) of *Vigna unguiculata* (L.) Walp.. Two formulations of *Trichoderma* obtained by solid phase fermentation were applied (TMINAG and TFSS). A statistical design of Divided Plots with 2 factors and 3 levels was used, where a double ANOVA II Classification is performed. Emergence percentage, stem diameter, plant height, number of pods per plant, seeds per pod of cowpea bean plants were quantified. Final crop yield was determined. The results showed a positive effect on the application of *Trichoderma harzianum* Rifai (A-34) as a plant growth stimulator. In the present investigation, increases in yields of 0.48 t·ha⁻¹ and 0.81 t·ha⁻¹ were obtained for IPA 207, 1.28 t·ha⁻¹ and 1.13 t·ha⁻¹ for IPA 206, were obtained comparing the application of *Trichoderma* to control (non-application) experiments. The results reveal that the use of *Trichoderma harzianum* Rifai (A-34) in agriculture turns out to be a viable alternative that contributes to raising crop yields and replacing agrochemicals. **Keywords:** Biostimulant, *Trichoderma harzianum* Rifai (A-34), *Vigna unguiculata* (L.) Walp, Biofertilizer

Financing: Acknowledgments: USM PhD fellowship, FONDECYT 1200756, FIC Valparaíso 40004866 and USM PI-IN-19-07 grants.

Control de *Alternaria alternata* en plantas de tomate mediante inoculación radicular con *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 y *Pseudomonas putida* PCI2

Leonardo Cejas¹, Lorena Guiñazú¹, Adriana Torres¹, Marisa Rovera¹, **Nicolás Pastor**¹

(1) [IMICO] Instituto de Investigación en Micología y Micotoxicología - [CCT CONICET - Córdoba]. UNRC., Microbiología e Inmunología, Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Ruta 36, km 601, Río Cuarto, Argentina

Introducción: *Alternaria alternata* es un hongo omnipresente y es normal su detección en el ambiente. Posee una fase patogénica en la que puede infectar diversas especies, favorecido por estrés, madurez y senescencia del hospedero. La protección de cultivos contra enfermedades debe tender a satisfacer la progresiva demanda de alimentos tanto en cantidad como en calidad. Así, hay una conciencia creciente sobre el uso integrado de estrategias para el manejo sostenible de enfermedades. El control biológico mediante el uso de microorganismos benéficos representa una de esas estrategias. Especies del género *Trichoderma* son capaces de establecer interacciones que inducen cambios en el metabolismo de las plantas, lo que conduce a la generación de resistencia contra diferentes patógenos. Además, cepas de *Pseudomonas* fluorescentes tienen la capacidad de suprimir enfermedades a través de antibiosis, producción de sideróforos e inducción de resistencia sistémica.

Objetivos: evaluar el efecto biocontrolador de *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 y *Pseudomonas putida* PCI2, aplicadas a nivel radicular, solas o combinadas, sobre la severidad del tizón foliar de tomate por *A. alternata* y determinar si las plantas inoculadas muestran un fortalecimiento de la producción de enzimas de defensa.

Metodología: las plantas se hicieron crecer en cámara de crecimiento. Transcurridas cuatro semanas, se trasplantaron a macetas y se transfirieron a invernáculo. Dos semanas luego del trasplante, se inocularon 2 ml por maceta de una suspensión de PCI2 (1×10^6 ufc ml⁻¹), ITEM 3636 (1×10^5 conidios ml⁻¹) o mezcla de ambos en la zona adyacente a las raíces. Una semana luego de la inoculación, se atomizaron esporas de *A. alternata* (1×10^4 conidios ml⁻¹) sobre las hojas. Plantas sin inocular y sin atomizar sirvieron como controles. Asimismo, se incluyó un control de patogenicidad. A los 1, 3 y 5 días post infestación se recolectaron muestras de hojas que se utilizaron como fuente de enzima para estimar peroxidasa (PO), polifenoloxidasa (PPO) y β -1, 3 glucanasa. La severidad del tizón foliar se registró dos semanas post infestación con el patógeno. Resultados: las plantas del control de patogenicidad mostraron un porcentaje de índice de enfermedad (PDI) promedio de 31,9. La inoculación previa con ITEM 3636, PCI2 o ambos redujo el PDI hasta 12,3, 6,3 y 5,6, respectivamente. En cuanto a la actividad de enzimas de defensa, se observó que la pre-inoculación incrementa significativamente la actividad, particularmente la inoculación con ITEM 3636, que la mantiene elevada, con respecto a los demás tratamientos, hasta los 5 días post-infestación con el patógeno. Conclusiones: la inoculación radicular con ITEM 3636 y PCI2, solas y combinadas, es eficaz para controlar la enfermedad por *A. alternata* en tomate. Los niveles más altos de PO, PPO, y β -1, 3 glucanasa pueden haber contribuido colectivamente a la resistencia de las plantas contra el patógeno.

Desarrollo de metodologías de control de calidad para biofertilizantes a base de Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares

Ivonn Marcela Gelvez Pardo¹, **Adriana Marcela Santos Diaz**²

(1) Corporación colombiana de investigación agropecuaria - Agrosavia, Laboratorio de Microbiología Agrícola, Centro de investigación Tibaitatá, Km 14 vía Mosquera - Bogotá, Mosquera, Colombia

(2) Corporación colombiana de investigación agropecuaria - Agrosavia, Laboratorio de Microbiología Agrícola, Sede Central, Km 14 vía Mosquera - Bogotá, Mosquera, Colombia

Los Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares (HFMA) son una alternativa para la reducción de pérdidas en procesos de establecimiento de diferentes especies de interés agrícola; debido al incremento en el crecimiento de raíces, mayor acumulación de biomasa y una mejor adaptación a condiciones de estrés hídrico o nutricional bajo condiciones de campo. Además, el uso de productos biológicos a base de estos hongos contribuye en la reducción de uso de fertilizantes de síntesis química, siendo ampliamente utilizados en agricultura sostenible. Sin embargo, el éxito de un biofertilizante depende de la calidad del producto y, por lo tanto, se requieren implementar metodologías de control de calidad que sean repetibles y reproducibles en el tiempo. Con base en lo anterior, se estandarizaron tres metodologías de control de calidad aplicables para biofertilizantes a base de HFMA: cuantificación de esporas de HFMA mediante la técnica de Gerdeman y Nicolson – modificada, actividad biológica en invernadero y el porcentaje de colonización de HFMA en raíces. La validez de cada metodología se estableció mediante varios parámetros de reproducibilidad como coeficiente de variación ($\leq 10\%$), desviación estándar o Z-score. Para la cuantificación de esporas de HFMA, 5 analistas cuantificaron 5 muestras diferentes y los resultados fueron clasificados de acuerdo del tamaño de tamiz de lectura. Tres analistas demostraron competencia técnica. Para la actividad biológica en invernadero, la estandarización incluyó la selección de plantas modelo para las cepas de referencia *Claroideoglomus etunicatum* (Gl07) y *Rhizogloium irregulari* (Gl08). Para *C. etunicatum* la planta modelo seleccionada fue cebolla larga (*Allium fistulosum*) con un porcentaje de micorrización del 65% y para la cepa *R. irregulari* se seleccionó la planta modelo kudzu (*Pueraria lobata*) con un 70% de micorrización. La metodología de tinción de raíces para determinar el porcentaje de colonización de HFMA se estandarizó con la participación de dos analistas. Con base en los parámetros de validez establecidos, las metodologías fueron repetibles y reproducibles en el tiempo, lo que permite contar con un paquete de métodos confiables que están disponibles para implementar en los procesos de producción y en producto terminado de bioinsumos agrícolas a base de HFMA.

Financing: Este proyecto fue desarrollado en el Laboratorio de Microbiología Agrícola de la Corporación colombiana de investigación agropecuaria – Agrosavia.

Jatropha curcas seed cake and cottonseed cake bio-detoxification and β -glucans enrichment with *Pleurotus pulmonarius* and *Pannus lecomtei*

Marina Borges Guimarães^{1,2}, Joice Raisa Cunha^{2,3}, Aparecido Almeida Conceição^{2,4}, Raquel Bombarda Campanha², José Antonio de Aquino Ribeiro², Elias Alves da Silva², Félix Gonçalves Siqueira², Simone Mendonça², Pérola Oliveira Magalhães Dias Batista¹

(1) Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília - DF, Brazil

(2) Embrapa Agroenergia, Embrapa Agroenergia, Parque Estação Biológica - PqEB s/nº, Brasília - DF, Brazil

(3) Universidade Federal de Lavras, Biotecnologia Vegetal, Aqueanta Sol, Lavras - MG, Brazil

(4) Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde, Rua Hormindo Barros, 58 - Candeias, Vitória da Conquista - BA, Brazil

Agro-industrial wastes have economic and nutritional potential for animal feed. However, *Jatropha* seed cake (JSC) and cottonseed cake (CSC) present toxic compounds as phorbol esters (PE) and free gossypol, respectively, that can cause hemorrhage and fertility problems in animals. In previous studies, colonization of biomasses with some basidiomycetes was effective in bio-detoxifying of those materials. In addition, basidiomycetes are rich in polysaccharides (β -glucans) that presents anti-inflammatory and immunomodulatory properties, bringing additional benefits for animal feed. In this work, *Pleurotus pulmonarius* and *Pannus lecomtei* were inoculated in JSC and CSC, respectively, in order to obtain 30 days colonized samples. After mushroom harvesting, SMS (Spent Mushroom Substrate) was also collected. In the biomass preparation, besides CSC and JSC, coconut husks (CH) and macauba (*Acrocomia aculeata*) cake (MC) were added to cultures to improve colonization, due to their higher lignocellulosic content. Cultures were prepared in the following proportions: JCS 80% + CH 20%, JCS 50% + CH 50% and JCS 20% + CH 80%; and CSC 80% + MC 20%, CSC 50% + MC 50% and CSC 20% + MC 80%. Phorbol ester (PE) and Free gossypol (FG) content were quantified using UHPLC methods with DAD/MS detectors. Aqueous extracts were obtained with Accelerated Solvent Extractor (ASE, Dionex, USA) and β -glucans quantification was carried out with Beta-Glucan Assay Kit (Megazyme, Ireland). β -glucans (g/100 g) were calculated by the difference between total glucans and α -glucans. Results showed that in all JSC colonized and SMS biomasses the levels of PE were below 90 ppm, considered safe to be used in animal diet. In CSC, safety levels to animal feed varies from 20 - 500 ppm. All colonized biomasses presented levels below 128.3 ppm, and SMS presented levels below 87.9 ppm. β -glucans from JSC aqueous extracts varied between 5.4 – 10.6 g/100 g, and from CSC aqueous extracts varied between 4,0 – 15.2 g/100 g. These results showed that colonization with *P. pulmonarius* and *P. lecomtei* in JSC and CSC, respectively, was capable to bio-detoxicate those biomasses into safety levels to animal feed and enriches those biomasses with β -glucans.

Financing: The authors would like to thank FAPDF (Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - 01983.001720/2017) and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Estandarización de una PCR en tiempo real para la detección de *Ralstonia solanacearum* filotipo IIB4 a partir de muestras de suelo rizosférico

Daniel Osorio^{1,3}, Maria Juliana Moncada Diaz^{1,2}, Maria Alejandra Villamizar Monsalve¹, Diego Alexander Guerra Arias^{1,3}, Harold Alexander Vargas Hoyos¹, Luz Edith Argel Roldan³, Carlos Enrique Muskus López², Juan Esteban Perez Jaramillo¹

(1) Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET), Universidad de Antioquia, Unidad de Bioprospección y estudio de Microbiomas, Medellín, Colombia

(2) Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET), Universidad de Antioquia, Unidad de Biología Molecular y Computacional, Medellín, Colombia

(3) Centro de Investigaciones del Banano (Cenibanano), Carepa, Colombia

La bacteria *Ralstonia solanacearum* es el agente causal de la enfermedad del Moko, uno de los problemas fitosanitarios más limitantes en plantaciones de plátano y banano, generando importantes pérdidas económicas y largos tiempos de cuarentena en unidades agrícolas productivas. El desarrollo de un método de diagnóstico temprano, específico y sensible de este patógeno en el suelo y tejidos de plántulas, previo al establecimiento del cultivo, es prioritario para evitar sus efectos negativos en plantas adultas. En este trabajo, se propone una metodología basada en PCR en tiempo real para la detección de la bacteria a partir de muestras de suelo rizosférico. Se diseñaron cebadores con base en el gen que codifica para la endoglucanasa (*egl*) del filotipo IIB4 de *R. solanacearum* y se estandarizaron condiciones óptimas de qPCR empleando SYBR Green para la amplificación de un fragmento de 108pb. Se determinó que el método es altamente sensible, llegando a amplificar hasta 9.6×10^{-5} ng/ μ L de ADN obtenido de células de cultivo de la bacteria. Posteriormente se confirmó una alta sensibilidad experimental mediante el análisis de muestras de ADN de suelo sin bacteria y muestras inoculadas con concentraciones conocidas de la bacteria. En todos los casos las muestras provenientes de muestras de suelo sin bacteria no presentaron amplificación, mientras que todas las muestras de suelo rizosférico infectado con *R. solanacearum* fueron positivas. La especificidad de la reacción se determinó empleando ADN obtenido de los fitopatógenos *Xanthomonas* spp. y *Pectobacterium* spp., sin obtener ninguna amplificación. Este método de detección y cuantificación de *R. solanacearum* aplicado a muestras de suelo, previo al establecimiento de cultivos de banano y plátano, puede ser implementado como una medida de prevención de la enfermedad del Moko con sus efectos benéficos en la sanidad vegetal y en la productividad.

Respuesta de plantas de pimiento a la inoculación en el momento del trasplante con las cepas benéficas *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 y *Pseudomonas putida* PCI2

Leonardo Cejas¹, Lorena Guiñazú¹, Adriana Torres¹, Marisa Rovera¹, **Nicolás Pastor¹**

(1) [IMICO] Instituto de Investigación en Micología y Micotoxicología - [CCT CONICET - Córdoba]. UNRC., Microbiología e Inmunología, Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Ruta 36, km 601, Río Cuarto, Argentina

Introducción: El pimiento (*Capsicum annum* L.) se ubica entre las siete hortalizas más importantes en el mundo, con una producción anual estimada en 24 millones de toneladas. Se consume fresco, cocido o como condimento en diversos países. Argentina es el principal productor en Sudamérica, cultivándose unas nueve mil hectáreas. Ya sea que se vaya a cultivar a campo o en invernaderos, el mismo debe iniciarse mediante el trasplante de plantines. El objetivo principal de los productores de hortalizas es obtener plántulas de alta calidad en poco tiempo. El uso de estrategias ecológicas para minimizar el uso de insumos químicos en las prácticas hortícolas tradicionales es el objetivo final de la horticultura sostenible. Numerosos estudios han demostrado que algunas cepas rizosféricas de *Trichoderma* y *Pseudomonas* tienen efectos directos e indirectos sobre las plantas, aumentando su potencial de crecimiento y absorción de nutrientes, así como estimulando sus defensas contra diversos patógenos. **Objetivo:** evaluar la efectividad de la inoculación simple o mixta para la promoción de crecimiento y el aumento de rendimiento de plantas de pimiento a campo. **Metodología:** se utilizaron semillas de la variedad Fyuco INTA, que se pusieron a germinar en bandejas llenas con una mezcla estéril de suelo:perlita (2:1) y se colocaron en una cámara de crecimiento bajo ciclos controlados de 16 h de luz a 25°C y 8 h de oscuridad a 20°C, durante 4 semanas. Luego, se montaron lomos en el campo experimental de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba. Se probaron los tratamientos control sin inoculación, inoculación con ITEM 3636, inoculación con PCI2 y co-inoculación. Al momento del trasplante, los plantines se inocularon por inmersión de sus raíces en una suspensión bacteriana (1×10^6 ufc ml⁻¹), fúngica (1×10^5 conidios ml⁻¹) o mezcla de ambas. Se utilizó el sistema de riego por surcos. No se aplicaron herbicidas químicos. Además, no se utilizaron ni fungicidas químicos ni insecticidas. Las plantas y sus frutos se recolectaron después de 4 meses. Los parámetros evaluados fueron: peso seco aéreo y radicular, número de pimientos/planta y peso de pimientos/planta. Se hicieron comparaciones con ANOVA y LSD ($P < 0.05$). **Resultados:** los tratamientos de co-inoculación e inoculación simple causaron incrementos significativos de peso seco aéreo, comparado con el control. Dichos incrementos representaron diferencias de peso de aproximadamente el 100% en relación al tratamiento control. Para peso de pimientos/planta se observó que la inoculación con ITEM 3636 causó un incremento significativo, comparado con los demás tratamientos. Dicho parámetro resultó, en promedio, un 37,7 % más alto que en plantas control, un 27% más que en plantas co-inoculadas y un 18,6% más que en plantas inoculadas con PCI2. **Conclusión:** ambos microorganismos tienen potencial para ser formulados como biofertilizantes de aplicación en horticultura.

Variovorax sp. strain P1R9 improves salt-induced stress tolerance in wheat seed germination when is applied as part of bacterial consortia

Milko Jorquera^{1,2}, Jacqueline J. Acuña^{1,2}, Nitza G. Inostroza^{1,2}, Joaquin I. Rilling^{1,2}, Marco Campos^{1,2}

(1) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada (EMALAB), Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Network for Extreme Environment Research (NEXER), Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Endophytic bacteria from extremophile plants are being isolated and bio-prospected to be used as part of bio-stimulant formulations to prevent the damages attributed to abiotic stress on agricultural plants. In this study, we isolated bacterial strains from the endospheres of endemic plants grown in Atacama Desert and Patagonia of Chile. Over 300 bacterial strains were isolated and screened by plant growth-promoting (PGP) traits, such as insoluble phosphate utilization, production of tryptophan-dependent auxins, ACC deaminase activity and salt tolerance. Five strains (*Variovorax* sp. strain P1R9, *Corticococcus* sp. strain P1R11, *Bacillus* sp. strain P1R13, *Bacillus* sp. strain P1R34 and *Curtobacterium* sp. strain P2H47) showing the higher relative activities of PGP traits were selected for single and consortia inoculation assays. The germination index (GI) proposed by Tiquia et al. (Environ. Poll. 93:249-256 [1996]), based on relative % of germination and relative % of root growth, was adopted to evaluate the effect of salt-induced stress on seeds of wheat as plant model. Interestingly, those consortia formulated with *Variovorax* sp. strain P1R9 showed values of GI index > 80% denoting absence of salt-induced stress while those consortia without *Variovorax* sp. strain P1R9 or single inoculation showed IG index values of 50~80% and <50% denoting intermediate or high salt-induced stress, respectively. Similar result was also observed with consortia formulated with bacterial strains previously reported as PGP bacteria (*Klebsiella* sp. 8LJA and *Klebsiella* sp. 27IJA). Our results suggest that *Variovorax* sp. strain P1R9 can be considered as part of formulated PGP bacteria consortia to efficiently prevent salt-induced stress during germination and growth of wheat seedlings. However, higher studies are required to elucidate the interactions and mechanisms (synergisms or mutualisms) where *Variovorax* sp. strain P1R9 is involved when is used as part of PGP bacterial consortium.

Financing: FONDECYT no. 1201386

Cepas de bacterias probióticas *Weissella confusa* con propiedades bioestimulantes de plantas y agentes de biocontrol del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans* De Bary)

Erica Castro¹, Ernesto Moya², Rodrigo Bórquez³, María José Aguayo⁴, Juan Mellado⁴, Karina Oyarce⁵, María José Parra⁶

(1) Universidad de Atacama, Departamento de Obstetricia y Puericultura, Facultad de Ciencias de la salud, Los Carrera 2862, Copiapó, Chile

(2) Universidad de Concepción, Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile

(3) Universidad de Concepción, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Edmundo Larenas 219, Concepción, Chile

(4) Universidad San Sebastián, Facultad de Medicina y Ciencia, Lientur 1457, Concepción, Chile

(5) Universidad San Sebastián, Facultad de Ciencias de la Salud, Lientur 1457, Concepción, Chile

(6) Universidad Santo Tomás, Dirección Académica, Universidad Santo Tomás, Antofagasta, Chile

El género *Weissella* está compuesto por bacterias Gram positivas, que son microorganismos anaerobios facultativos con ha descrito cepas de *Weissella* y sus bacteriocinas en aplicaciones tecnológicas y su uso como probióticos en alimentos. Se realizó el aislamiento de dos cepas de *W. confusa*, desde campos de cultivos de papa (GPS: -37 ° 35'01.53 " -73 ° 59'39.47 y 38 ° 20'57.53" -73 ° 54'49.22 ") en la provincia de Arauco, Chile. Una cepa (DSM33454) se obtuvo de *Lumbricus terrestris*, y la otra (DSM33455), de flores de *Solanum tuberosum*. Objetivo: Desarrollar un biocontrolador del tizón tardío de la papa base de las cepas lácticas (BAL) indicadas. Metodología: Se ejecutaron la siguiente etapas: i) Pruebas de antagonismo y antibacterianas, para determinar propiedades antagonistas de sobrenadantes de las cepas BAL sobre *P. infestans*. Además se ejecutaron pruebas de patogenicidad de los aislados bacterianos obtenidos desde el sustrato orgánico según protocolos estandarizados y se evaluó la antibiosis de las cepas BAL frente a aislados patogénicos de *P. infestans*, ii) En esta etapa se realizó una producción tecnológica a escala de laboratorio de las cepas aisladas la que se ocupó para los ensayos in vivo; iii) En una tercera etapa se evaluó in vivo el potencial de acción del formulado probiótico sobre aspectos fitosanitarios y productivos asociados al tizón tardío de la papa. Se consideró un ensayo en invernadero, un ensayo en estación experimental y 14 ensayos de campo donde se probaron los formulados ajustados al sistema de manejo de los productores en sus cultivos. Se evaluó rendimiento, e incidencia y severidad de daño de tizón en los tubérculos colectados de cada parcela. Resultados: Se mostró un claro efecto antagónico de las cepas investigadas sobre el crecimiento micelial de *P. infestans*, después de 15 días de co-cultivo. En ensayos de desafío, las cepas lácticas mostraron resultados positivos, observándose diferencias significativas en cuanto a la altura promedio de plantas tratadas con las formulaciones en relación al tratamiento control. Respecto a la tasa de infestación de tizón, el hongo fitopatógeno afectó de mayor manera a las plantas control respecto de las plantas tratadas con las cepas lácticas. El producto tecnológico desarrollado en concentración de 10E9, obtenido de una fórmula productiva con adición de peptona de pescado, fue aplicado durante el proceso de siembra, embadurnando las semillas a plantar o suspendido en agua y asperjado durante el desarrollo de la planta. Esta formulación, protegió el cultivo de la colonización e infestación del hongo *P. infestans* y otros oportunistas. Adicionalmente, estimuló el desarrollo vegetal, incrementando los indicadores de rendimiento hasta en 30%. Conclusión: Estos microorganismos pueden aplicarse durante la siembra mediante el tratamiento de tubérculos o semillas, o durante el crecimiento de las plantas por aspersión. Su aplicación protege los cultivos de papa de la colonización e infestación por *P. infestans* y estimula el crecimiento de las plantas, aumentando los rendimientos de papa.

Financing: Esta investigación se realizó con fondos del Proyecto FONDEF N ° ID17AI-0035, otorgado por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile.

Variables tecnológicas implicadas en la deshidratación por secado spray de un inoculante para silos basado en bacterias lácticas autóctonas

Jesica Blajman¹, Gabriel Vinderola², Alejandra Cuatrin⁴, Mariana Lingua³, Roxana Paez³

(1) Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA - CONICET), Ruta 34 Km. 227, Rafaela, Argentina

(2) Instituto de Lactología Industrial (UNL - CONICET), Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Argentina

(3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Rafaela, Ruta 34 Km. 227, Rafaela, Argentina

(4) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Paraná, Ruta 11 Km. 12,5, Oro Verde, Entre Ríos

El secado spray es una tecnología económica aún no utilizada a nivel comercial en Argentina para la producción de cultivos deshidratados de bacterias lácticas (BAL), a pesar de contar con la capacidad instalada para hacerlo. La supervivencia al secado y la estabilidad del producto durante el almacenamiento son procesos complejos que resultan de la combinación de varios parámetros tecnológicos. El objetivo de este estudio fue optimizar el secado spray de *Lactobacillus plantarum* Hv75, *Pediococcus acidilactici* 3903 y *L. buchneri* B463, tres cepas de BAL autóctonas con potencial para integrar un inoculante para silos. Se utilizó un diseño de arreglos ortogonales de Taguchi, tomando como variables la matriz y las condiciones de operación. Se evaluó la mejor combinación entre las siguientes matrices: WPC 35/suero de queso + almidón de maíz/maltodextrina/almidón modificado. También se estudiaron las variables T° de entrada (entre 130 y 150 °C) y flujo de aire (entre 357 y 601 L/h). La biomasa producida en fermentador se centrifugó y resuspendió en las soluciones de secado con 20% de sólidos totales. La deshidratación se llevó a cabo en un minisecadero spray BUCHI-B290. Como variables respuesta se analizaron la humedad, el rendimiento y el índice de solubilidad en agua. Los polvos obtenidos se conservaron a 5 y 25 °C. Antes y después del secado y a los 6 meses, se determinó el nivel de células viables mediante recuento en medio agar MRS. Para la optimización se utilizó el método de superficie de respuesta en conjunto con una función de deseabilidad. Los resultados indican que los valores óptimos se obtienen con WPC 35+maltodextrina como matriz protectora, temperatura de entrada de 145-150 °C y un flujo de aire de 601 L/h. En esta condición optimizada, el contenido de humedad, el rendimiento y la solubilidad serían de 3,96%, 73,68% y 90,36%; respectivamente. Además, habría una disminución de 0,855 log UFC/g después del secado, el mismo orden de recuento a 4 °C y reducción de 1 log UFC/g a 25 °C después de 6 meses. Los resultados obtenidos son prometedores en relación a la aplicación del secado spray para la producción eficiente de BAL.

Financing: Esta investigación fue financiada por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, Argentina) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (FONCyT, Argentina), Proyecto PICT-2017-0665.

Pudrición del tallo (*Sclerotium oryzae*) en cultivos de arroz en Paraguay

Lidia Quintana Viedma¹, Susana Gutiérrez², Diego Arriola², Aldo Ortiz¹

(1) Universidad Nacional de Itapúa., Departamento de Investigación y Extensión (Laboratorio de Fitopatología), Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Abog. Lorenzo Zacarías y Ruta VI, Encarnación, Paraguay

(2) Universidad Nacional del Nordeste, Protección Vegetal, Faculta de Ciencias Agrarias, Juan Bautista Cabral 2131, Corrientes, Argentina

La expansión del cultivo de arroz en Paraguay observada en las 5 últimas campañas agrícolas, junto a las nuevas tecnologías aplicadas, ha sido acompañada por un aumento en la presencia de enfermedades que afectan vainas foliares y tallos de arroz. Considerando la importancia regional y económica lograda por el cultivo de arroz en Paraguay, y ante la escasez de información sobre esta patología, el objetivo del trabajo fue caracterizar la sintomatología y etiología de la pudrición del tallo de arroz. Se colectaron 50 muestras de plantas sintomáticas de las principales regiones de producción del país y se aplicaron técnicas de rutina en fitopatología para el estudio de micosis como observaciones macro y microscópicas, siembras in vitro, y estudio de características morfológicas y culturales del hongo. La patogenicidad del hongo se determinó mediante inoculaciones en plantas sanas de arroz de 50 días de edad. Asociado a los síntomas observados en vainas y tallos de arroz, se identificó al hongo *Sclerotium oryzae* Catt causando lesiones irregulares de color negro, en las vainas foliares a la altura de la línea de agua, muerte paulatina de vainas con sus láminas foliares y finalmente la pudrición del tallo con formación de esclerocios de color negro y superficie lisa en el interior del tallo, o en la cara interna de las vainas foliares afectadas. La sintomatología observada y las características culturales y morfométricas del patógeno *Sclerotium oryzae*, fueron coincidentes con los reportados por las referencias bibliográficas analizadas.

Financing: PROCIENCIA, CONACYT

Biocontrol potential of chitinase CHI33_TRIHA (Q12713) from *Trichoderma harzianum*: In silico characterization

Esli Lobaina Lobaina¹, Constanza Cárdenas Carvajal², Marcela Carvajal Tocornal¹, Siannah María Más Diego³, Roberto Durán¹, Michael Seeger Pfeiffer¹

(1) Universidad Técnica Federico Santa María, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Valparaíso, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Núcleo de Biotecnología Curauma, Valparaíso, Chile

(3) Universidad de Oriente, Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA), Santiago de Cuba, Cuba

Trichoderma harzianum is a relevant filamentous fungus in the development of organic farming, due its versatility to control phytopathogens and stimulate plant growth. The use of liquid extracts of *T. harzianum* in the control of insect larvae has been reported, and several chitinases produced by this fungus are known, but the specific activity of these enzymes to biocontrol insects has not been described. Endochitinase 33 (CHI33) from *T. harzianum* was chosen along with twenty-four chitinases from other fungi (*Beauveria*, *Metarhizium*, *Pochonia*, *Ophiocordyceps*, *Saccharomyces cerevisiae*) to establish its potential functionality as one mechanism for fungi and insect biocontrol. The aim of this study is to characterize the physicochemical properties, secondary and tertiary structure, and functional motifs of the chitinase CHI33 from *T. harzianum* using phylogenetic and structural prediction analyses. All the chitinases evaluated are extracellular and belong to the glycosyl hydrolases family GH_18. The phylogenetic and the alignment analyses carried out showed highly conserved regions for most of the sequences, including the active site (GLU167). Physicochemical properties calculated with ProtParam indicated that most of the proteins are stable according to the Instability index. From aliphatic index and GRAVY index, high hydrophilicity of these enzymes was determined. The three-dimensional structure model of chitinase was obtained, using five different servers: ModBase, I-Tasser, Swismodel, Phyre2 and Raptor. Models were evaluated with several tools, and Swiss-model was selected as the best structure prediction. A structural comparison was made between the 3D model of *T. harzianum* and the PDB structures (PDB ID 4TXE, 6KPL and 6EPB) using Chimera 1.15 software, finding conservation in the catalytic domain described for the chitinase of the GH_18 family. Also, the enzyme was compared with chitinases from fungi used to biocontrol insects such as *Beauveria* and *Metarhizium*, establishing the presence of shared functional motifs among chitinases within the Hypocreales order. The results obtained in this study allow to postulate that the CHI33 of *T. harzianum* may have potential activity against insect chitin, which may be an additional advantage of this microorganism for biocontrol. CHI33 could also be associated as a biocontrol mechanism of *Trichoderma* against phytopathogenic fungi. Based on these results, we propose the use of this chitinase as a biocontrol agent for insects and fungi. Keywords: In-silico analysis, biocontrol, chitinase, fungi, protein structural prediction

Financing: Acknowledgments: USM PhD fellowship, FONDECYT 1200756, FIC Valparaíso 40004866 and USM PI-IN-19-07 grants.

Harzialactone A, isolated from *Trichoderma* sp., Inhibits the growth of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Dani Daniel Ruiz Diaz¹, Robert Campuzano¹, María Cristina Romero-Rodríguez¹, María Eugenia Flores-Giubi¹, Javier E. Barúa¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, San Lorenzo, Paraguay

Introduction. *Macrophomina phaseolina* is an important pathogen that causes charcoal rot in over 500 plant species throughout the world. Generally, fungicides are used to control *M. phaseolina* infections in crops but can be inefficient due to different environmental factors and cause long term harmful effects on human health. *Trichoderma* spp. have been widely used in agriculture as biocontrol agents due to their mycoparasitic capacity and to improve plant health and protection against phytopathogens. The mechanisms employed by *Trichoderma* include the secretion of effector molecules that mediate the beneficial interaction of *Trichoderma* with plants and the production of secondary metabolites with antibiotic activity. The identification of the molecules involved in *Trichoderma* antibiosis is necessary for better management of diseases caused by *M. phaseolina*. The objective of this study was to identify the bioactive metabolite secreted by a *Trichoderma* sp. isolates that inhibits the growth of *M. phaseolina*. **Materials and methods.** *Trichoderma* sp. FCQ13 was inoculated in medium potato dextrose broth, after 7 days of growth the mycelium was separated from the liquid medium by filtration and extraction of the filtrate was performed by liquid-liquid partition with ethyl acetate. Fractionation of the organic extract and the purification of compound was carried out by column chromatography. The identity of the purified compound was determined by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and Gas Chromatography coupled to a Mass detector (GC-MS). For the evaluation of the antifungal activity, *M. phaseolina* mycelium disc was placed at the center of petri dishes containing of potato dextrose agar, ten microliter of the crude extract, the organic fractions and the purified compound were applied on the top of each mycelium disc, the *M. phaseolina* growth was measured daily as colony diameter and was used to calculate the percentage of growth inhibition. **Results.** The crude extract and the purified compound of fraction F2 of *Trichoderma* sp. FCQ13 demonstrated a high inhibitory capacity against *M. phaseolina*. Using spectral data from NMR and MS the purified compound was identified as 5-benzyl-3-hydroxy-dihydrofuran-2(3H)-one, known as Harzialactone A. **Conclusions.** The results confirmed that the purified compound identified as Harzialactone A, is the main responsible for the antibiosis of the native isolate *Trichoderma* sp. FCQ13. The production of Harzialactone A and its antifungal activity against *M. phaseolina* FCQ39 highlight the potential of the native isolate of *Trichoderma* sp. FCQ13 in its use as a biocontroller for the control of crop pathogens.

Financing: CONACYT Proyecto 14-INV-194

Actividad antifúngica de *Lactobacillus plantarum* in vitro y en ensayo sobre frutillas trozadas

Luciana del valle Rivero¹, María Rosa Morales¹, Fabiana María Saguir¹

(1) Universidad Nacional de Tucumán, Cátedra de Microbiología General, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Ayacucho 471, San Miguel de Tucumán, Argentina

Introducción: Frutilla (*Fragaria X Ananasa*) es muy consumida a nivel mundial siendo Tucumán una de las principales provincias productoras. Sin embargo uno de los grandes problemas que presenta es su deterioro ocasionado por *Botrytis Sp* produciendo podredumbre gris, enfermedad postcosecha que genera grandes pérdidas económicas. El control biológico representa una alternativa valiosa en ese sentido y las bacterias lácticas desempeñan un papel clave mediante la síntesis de diversos metabolitos antimicrobianos. En un estudio previo caracterizamos bacterias lácticas aisladas de ensalada de frutas las cuales mostraron un elevado efecto antibacteriano. **Objetivos:** Evaluar la actividad antifúngica in vitro de 6 cepas de *Lactobacillus plantarum* y realizar ensayo preventivo in situ en frutilla trozadas inoculadas con cepas seleccionadas durante su almacenamiento a 4 y 30 °C. **Materiales y métodos:** La actividad antifúngica de 6 bacterias lácticas se estimó usando la técnica de la gota, para ello en placas conteniendo PDA se colocaron 20 µL de cada bacteria láctica en 4 sitios equidistantes a 2,5 cm de distancia del centro donde fueron sembrados *Botrytis. sp*, *Rizhopus sp* y *Aspergillus sp*. Como control se utilizó 20 µL de MRS. Las placas se incubaron a 25 °C durante 5 d. Luego se determinó el porcentaje de inhibición midiendo los diámetros de los halos. Además se probó el efecto antifúngico como método preventivo de 3 cepas de *Lactobacillus plantarum* sobre frutillas mínimamente procesadas, las cuales fueron sumergidas a temperatura ambiente en una suspensión bacteriana durante 15 minutos y como control se usó MRS. Se determinó el efecto de los aislados sobre las frutillas inoculadas y control después de incubar durante 14 días a 4 y 30° C observando la presencia y morfología micelial del crecimiento fúngico mediante microscopía electrónica. Además se determinó el recuento de levaduras usando YMPG-C. **Resultados:** El efecto inhibitorio frente a los hongos fue variable ya que *Rizhopus sp.* fue completamente resistente a las bacterias lácticas excepto frente a *L. plantarum* EFj24 (45% inhibición) , *Aspergillus sp.* mostró una inhibición entre 40 y 50% frente a la mayoría de cepas ensayadas y *Botrytis sp.* fue completamente inhibido por todas las cepas. En las frutillas inoculadas con bacterias lácticas no se observó presencia de contaminantes fúngicos, mientras que en frutillas control se observó el desarrollo de hongos gris de aspecto veloso típico de podredumbre gris ocasionada por *Botrytis*, lo cual fue confirmado por microscopía electrónica. El recuento de la población levaduriforme en medio YMPG-C aumentó 3 ciclos log en muestras control mientras que no se detectaron células viables a los 2 días en muestras inoculadas. **Conclusiones:** Las cepas ensayadas mostraron fuerte actividad antifúngica especialmente frente a *Aspergillus sp.* y *Botrytis sp.*, y en frutillas mínimamente procesadas el efecto preventivo fue exitoso lo cual resulta interesante para su potencial aplicación como agentes de biocontrol de enfermedades postcosecha alternativo al uso de agentes químicos.

Financing: ConicetScait

Antifungal potential of a mixed culture isolated from Manaure Solar Saltern in La Guajira, Colombia against *Botrytis cinerea*

Daniela Gualdron Ramirez¹, Nathalia Elizabeth Conde Martínez², María Ximena Quintanilla Carvajal³, Adriana Maria Castro Sánchez⁴

(1) Universidad de La Sabana, Maestría en Diseño y Gestión de Procesos, Facultad de Ingeniería, Chía, Colombia

(2) Universidad de La Sabana, Grupo de Investigación de Bioprospección, Facultad de Ingeniería, Chía, Colombia

(3) Universidad de La Sabana, Grupo de Investigación en Procesos Agroindustriales, Facultad de Ingeniería, Chia, Colombia

(4) Universidad de La Sabana, Investigador Sabana HUB, Chia, Colombia

Food and crops can be affected by a diversity of pests. Huge losses in crops are produced by fungi. Among this group, *Botrytis cinerea* is one of the most representative pathogens. It can infect a large range of hosts, leading to losses of millions of dollars in economically important crops. Different strategies have been proposed to control this pathogen. Some of them include cultural and chemical control with the use of fungicides, being the last one the most common practice to control it. However, the indiscriminate use of synthetic fungicides and their long-term application generate impacts at the ecological, social, and environmental levels, by the toxicity of its components. New sustainable alternatives are being developed and implemented for replacing synthetic fungicides. Many of these alternatives are based on the use of natural product extracts derived from macro and microorganisms. In the last decades, it is shown that the macro and microorganisms isolated from marine environments can produce secondary metabolites with several bioactivities such as anticancer and antimicrobial activity. In a recent study, a mixed culture was isolated from a sediment sample from Manaure Solar Salterns in La Guajira – Colombia. This mixed culture was mainly composed of different bacteria species belonging to the *Virgibacillus* genus and has been studied for their capacity to produce metabolites with antibacterial and cytotoxic activity. Considering the bioactive potential reported for this mixed culture, this study determines the antifungal activity of the mixed culture (A1SM-29) isolated from a sediment sample of the pond A1 with 4% of salinity, from the Manaure Solar Saltern in La Guajira- Colombia, against *B. cinerea*. For this purpose, the mixed culture was grown in a liquid medium M1 (4% of NaCl) with a final volume of 2.5 L and incubated for 15 days at 30°C and 150 rpm. The whole culture broth of the mixed culture was extracted twice with ethyl acetate (1:1) and the organic fraction was subjected to rotary evaporation under vacuum obtaining a yield of 4.8%. The capacity of the extract to inhibit germination at different concentrations (350, 300, 250, 200, 150, 100, 70, and 35 ppm) was evaluated using PDB media inoculated with a conidia solution (1x10⁵conidia/mL) along with the extract at each concentration for 8 h at 25°C and 150rpm. As a result, the inhibition of the germination percentage was 97.3% at a concentration of 350ppm. The IC₅₀ value calculated by linear regression was 133 ppm. According to the HPLC-PDA analysis, three major compounds were evidenced, which were obtained as enriched fractions. The antifungal activity of the three fractions following the same protocol mentioned above was evaluated and the inhibition of germination values of 32%, 44%, and 51% was obtained. According to the results, and different reports in the literature, the genus *Virgibacillus* can produce metabolites that could act in the cellular wall to destabilize the cell, which inhibit the germination and growth of *Botrytis cinerea*.

Financing: Universidad de La Sabana Ministerio de Ciencia y Tecnología e Innovación- Colombia

Evaluation of the effect of *Macrophomina phaseolina* and its metabolites on the sesame (*Sesamum indicum*) hormonal response

Jazmin Vaceque Acosta¹, Maria Bareiro¹, Belén Rodríguez¹, Cristina Romero-Rodríguez¹, Julio Iehisa², Javier Barúa¹, Nelson Alvarenga³, Ma. Eugenia Flores Giubi¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Ruta Mcal. Estigarribia Km 11, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Ruta Mcal. Estigarribia Km 11, San Lorenzo, Paraguay

(3) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Fitoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Ruta Mcal. Estigarribia Km 11, San Lorenzo, Paraguay

Introduction *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. is a necrotrophic fungal pathogen that causes charcoal rot disease in several plant species, including *Sesamum indicum*. This significantly reduces the production yield, and it causes important economic losses in agriculture. Despite being a fungus that affects crops worldwide, the study of the pathogenesis mechanism has been poorly addressed and remains unclear. **Objective** The objective of this work was to establish a biological model to investigate the hormonal changes in sesame seedlings exposed to *M. phaseolina* and its metabolites previously isolated. **Materials and Methods** Sesame seedlings maintained in Murashige and Skoog (MS) medium were inoculated with a disc of potato dextrose agar containing mycelium of *M. phaseolina* or were treated with a filter paper containing metabolites. Three native isolates of *M. phaseolina* from the mycological strain bank of the Biological Chemistry department were evaluated: FCQ63, Naranjal and Campo 9. To evaluate the effect of each isolate and their organic extracts on sesame seedling, the root growth, root discoloration and necrosis were registered until six days post inoculation (dpi). These data allow to calculate disease index for each isolated. The evaluation of organic extract was performed by agar diffusion method with 300 µg of extract dissolved in DMSO, pure DMSO was used as control. To evaluate the variation of phytohormone in sesame seedling the chromatography method was optimized using standards of salicylic acid and indole 3 acetic acid by UPLC-MS/MS operating in Multiple Reaction Monitoring (MRM). **Results** The isolates FCQ63 and Naranjal affected the growth of sesame seedling from 1 dpi, however Campo 9 isolate affected at 3 dpi. Disease index of Naranjal isolate was higher than FCQ63 and Campo 9 until 4 dpi. After this, the disease index of FCQ63 was increased and complete necrosis of the seedlings were observed, causing the death of seedlings. The effect of fungal extracts was observed at 1 dpi for all isolates, where a reduction of seedling growth was observed. Disease index of the extract of FCQ63 was higher than that of Naranjal and Campo 9 until 6 dpi. Metabolites secreted by FCQ63 caused the death of seedlings, similar to that observed with the mycelium of the same isolate. The analysis of salicylic acid and indole 3 acetic acid standards by UPLC-MS/MS allowed to detect both phytohormones in different retention time. These results indicate that this methodology will allow to analyze both phytohormones in a single run, using UPLC-MS/MS. **Conclusions** The FCQ63 isolate was the most virulent causing the death of the seedlings when the plants were exposed to mycelium and metabolites secreted by the fungus. Based on the disease index, 2 dpi was selected to evaluate the changes in phytohormone levels in seedling exposed to mycelium and metabolites. The method for analysis by UPLC-MS/MS of salicylic acid and indole 3 acetic acid was optimized.

Financing: Funding This research was supported by The International Foundation For Science (IFS) (Grant number I-1-F-5783-2).

Histone deacetylase inhibitors induce changes in the growth and production of secondary metabolites of the phytopathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*

Micaela Acosta¹, Dani Daniel Ruiz Díaz¹, Jazmín Vaceque¹, Alberto Cubilla¹, Amiliana Pineda¹, María Cristina Romero-Rodríguez¹, María Eugenia Flores-Giubi¹, Javier Enrique Barúa-Chamorro¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, San Lorenzo, Paraguay.

Introduction. Secondary metabolites or natural products are low molecular weight molecules and generally possess bioactive properties. *Macrophomina phaseolina* is a necrotrophic polyphagous phytopathogenic fungus that causes the disease called charcoal root and stem rot. In its genome were identified 75 genes that possibly encode secondary metabolite synthesis pathways. The most used method to evaluate the expression of silent genes is the cultivation of the fungus in supplemented culture media. It is possible to alter gene expression using chemical epigenetic modifiers, which are small molecules capable of inhibiting some enzymes, such as histone deacetylases. The objective of the present work was to evaluate the effect of histone deacetylase inhibitors on the chemical diversity of molecules secreted by *M. phaseolina*. **Materials and methods.** *M. phaseolina* FCQ11, was inoculated in medium potato dextrose broth supplemented with 0.1 mM, 1 mM and 10 mM of sodium valproate (VAL) and sodium butyrate (BUT), as a control culture medium with inoculum and not supplemented was used. After 5 days (T1) and 10 days (T2) of growth, the mycelium and the liquid medium were separated by filtration. The organic extraction of the filtrate was done by liquid-liquid partition with ethyl acetate and the mass of the organic extracts obtained was registered. The organic extracts were analyzed by TLC (Thin Layer Chromatography) and HPLC-UV (High-Performance Liquid Chromatography) chromatographic techniques. **Results.** The yield of the organic extract was higher in the culture media supplemented with 0.1 mM of VAL (293.5 mg/L) and 1 mM of BUT (257.5 mg/L), the fungus did not grow when it was exposed to a concentration of 10 mM of VAL. In the TLC of the organic extracts, differences were observed in the profiles of metabolites secreted by *M. phaseolina* in the different experimental conditions. In the HPLC-UV analysis of the extracts supplemented with VAL, the presence of three peaks was observed as well as the non-supplemented control extract. However, at a concentration of 1 mM the peak with retention time (rt) 4,100-4,133 minutes showed a much intensity, less than the other conditions. In the extracts supplemented with BUT, the presence of a peak with rt 8.308 minutes was observed, absent in the control. **Conclusions.** Differences were found in the yields of the organic extracts subjected to the different experimental conditions. The 10 mM concentration of VAL has been shown to inhibit fungal growth. On the other hand, the evaluation of the effect on the chemical diversity secreted by *M. phaseolina* by means of TLC and HPLC showed a variation in the production of metabolites in the presence of the epigenetic modifiers used.

Financing: CONACYT PINV18-134

Identificación molecular de *Fusarium* spp. aislados de suelo rizosférico y raíces de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) en el departamento de Boyacá, Colombia.

Jhojan Camilo Chiquillo Pompeyo¹, Martha Benavides-Rozo², Ingrid Rocio Fonseca-Guerra³

(1) Universidad de Boyacá, Ciencias de la Salud, Carrera 2ª Este No. 64 - 169, Tunja, Colombia

(2) Universidad Santo Tomás, Ciencias Básicas, Calle 19 No 11-64, Tunja, Colombia

(3) Universidad de Boyacá, Biología y Microbiología, Ciencias e Ingenierías, Carrera 2ª Este No. 64 - 169, Tunja, Colombia

La quinua es considerada un alimento de alta calidad por su gran aporte nutricional que podría reemplazar el uso de alimentos de origen animal, además de ser un cultivo cosmopolita que presenta características agronómicas ventajosas sobre otros cultivos, como su alta resistencia a factores abióticos y bióticos y la diversidad edafoclimática en la que es capaz de adaptarse, sin embargo, esta especie se pueden ver afectados por fitopatógenos que se transmiten por el suelo como *Rhizoctonia* spp. y *Fusarium* spp., este último género es conocido por su capacidad de afectar diferentes huéspedes vegetales logrando infectar raíces, tallos, hojas, frutos y semillas dejando grandes pérdidas económicas a nivel mundial. Teniendo en cuenta la alta incidencia de este género en cultivos en la región, el objetivo de esta investigación consistió en la caracterización molecular de especies de *Fusarium* provenientes de la rizosfera y endófitos de raíces de cultivos de este pseudocereal de la zona centro del departamento de Boyacá-Colombia. Para ello, se muestrearon 4 cultivos de quinua en estado de madurez fisiológica ubicados en los municipios de Tunja, Soracá, Siachoque y Tuta recolectando suelo rizosférico y raíces secundarias de los respectivos lotes. Por medio de dilución seriadas del suelo, así como la previa desinfección de las raíces se lograron aislar ejemplares que fueron seleccionados para su purificación por microcultivo y descripción de estructuras morfológicas; en cuanto al análisis molecular, las cepas fueron liofilizadas para la extracción de ADN, la cual se realizó siguiendo el protocolo de Wizzard Genomics - Promega®. La identificación molecular se realizó amplificando mediante PCR convencional y secuenciación de fragmentos obtenidos con los iniciadores ITS-1 - ITS-4, con una Tm°C de 55 y TEF983 - TEF2218 con una Tm°C de 60.5. Las secuencias fueron procesadas por medio del software de bioinformática Geneious Prime donde se ajustaron, alinearon y construyeron los árboles filogenéticos permitiendo la identificación de *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. equiseti* y *F. graminearum* con un porcentaje de identidad igual o mayor de 99.5% para ambos marcadores moleculares. El hongo de mayor prevalencia en suelo rizosférico y raíces fue *F. oxysporum*, permitiendo la caracterización de diferentes morfotipos de esta especie. En conclusión, la determinación de ejemplares del género *Fusarium* en suelo rizosférico como en raíces de las plantas de *C. quinoa* permite entender mejor sobre las comunidades fúngicas presentes en cultivos de este pseudocereal, así como la implementación de planes de mejoramiento y prevención. Este es el primer reporte del complejo *Fusarium* a nivel nacional en cultivos de quinua por lo que se espera tener una mejor perspectiva en el futuro sobre el posible impacto que estos microorganismos puedan llegar a tener en la cadena productiva de quinua de la región.

Financing: La presente investigación se encuentra cofinanciada por la Universidad de Boyacá y recursos provenientes del patrimonio autónomo del fondo nacional de financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas.

Determinación de la actividad antifúngica de un biofungicida tribacteriano contra distintas especies de hongos fitopatógenos y evaluación de su compatibilidad con fungicidas químicos sintéticos

Tiare Alvarado¹, Alvaro Moya¹, Bernardo Latorre¹, Andrea Mahn¹, Antonio Castillo¹

(1) Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Estación Central, Santiago.

El uso de biofungicidas para el control de hongos fitopatógenos es una alternativa promisoriosa, ya que es menos probable la selección de cepas fúngicas resistentes, en general presentan baja toxicidad, no existen evidencias que alteren la flora microbiana nativa de los vegetales y no son recalcitrantes como los pesticidas químicos de uso actual. En nuestro laboratorio, se está desarrollando un biofungicida tribacteriano, que posee como principio activo cepas de las especies bacterianas *Bacillus amyloliquefaciens*, *Stenotrophomonas rhizophila* y *Pseudomonas protegens*. Estas cepas bacterianas actúan de forma antagónica y sinérgica, siendo capaces de inhibir el crecimiento del micelio fúngico y la germinación de conidios del hongo *Botrytis cinerea*. El objetivo de este trabajo fue determinar la eficacia de este biofungicida tribacteriano contra otras especies de hongos fitopatógenos y evaluar su compatibilidad con fungicidas químicos sintéticos de uso actual. Para ello, se realizaron ensayos de antagonismo o inhibición del desarrollo del micelio fúngico, ensayos de inhibición de la germinación de esporas fúngicas y bioensayos de protección en frutos susceptibles a la infección por especies fúngicas de los géneros *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Monilinia*. Los resultados revelaron que el biofungicida tribacteriano presentó actividad antifúngica contra las especies de hongos ensayados, logrando inhibir el desarrollo micelial y la germinación de esporas, además de proteger a los frutos del ataque por cada una de las especies fúngicas analizadas. Finalmente, los resultados obtenidos demuestran que el biofungicida tribacteriano es compatible con los fungicidas químicos estudiados y por lo tanto, podría utilizarse en el diseño de una estrategia de manejo integrado para el control de hongos fitopatógenos.

Financing: Trabajo financiado por el Proyecto FONDEF IDEA ID15I20589

Antagonismo in vitro de bacterias benéficas del filoplano y rizosfera a patógenos fúngicos causantes de la pudrición poscosecha en frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.).

Araceli Pintos¹, Cristhian Grabowski¹, Laura Soilan¹, Noelia Godoy¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Central, Facultad de Ciencias Agrarias, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

Una causal importante de pérdidas de frutas en poscosecha de frutilla son las pudriciones de etiología fúngica causada principalmente por *Botrytis cinerea* (Bc), *Colletotrichum acutatum* (Ca) y *Pestalotiopsis longisetula* (Pl). Implementar exclusivamente el control químico tiende a generar problemas en el ámbito de salud alimentaria y propiciar la selección de fitopatógenos resistentes. Ante esta situación surge como alternativa el control biológico de enfermedades. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto antagónico in vitro de bacterias benéficas ante patógenos fúngicos causantes de pudrición poscosecha en frutilla. El experimento se llevó a cabo durante los meses de marzo a julio del año 2021, en el Laboratorio de Fitopatología - Área de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción. Los patógenos evaluados fueron Bc, Ca y Pl, los mismos fueron aislados de frutas con síntomas de pudrición. Se aislaron bacterias de la rizósfera y filoplano de plantas de frutilla sanas provenientes de parcelas de producción de las localidades de Itauguá y J. Augusto Saldivar, Departamento Central, Paraguay, por el método de dilución seriada en solución salina (factor de dilución 8) y siembra en medios de cultivo de Kado y Heskett (1970) y B de King (1954). Para verificar el antagonismo ejercido por la producción de compuestos antimicrobianos hidrosolubles y volátiles sobre el crecimiento de los patógenos en condiciones in vitro se utilizaron los métodos de cultivo pareado y pareado de placas. Un total de 18 bacterias, 13 esporógenas caracterizadas como *Bacillus* spp. y 5 productoras de pigmentos fluorescentes caracterizadas como *Pseudomonas fluorescens*, se aislaron de plantas de frutilla por características fenotípicas, codificadas según la localidad y la parte de la planta utilizada. En el método de cultivo pareado el aislado que evidenció un mayor porcentaje de inhibición para todos los patógenos evaluados fue IH1-1 (Ca 22%, Pl 29% y Bc 33%), siendo el efecto inhibitorio individual destacado el obtenido por los aislados JH1-1 (Ca 34%), JR2-2 (Pl 35%) y JH1-2 junto con IH1-1 (Bc 33%). En el segundo método evaluado, los aislados de mejor desempeño para producción de compuestos volátiles fueron IH1-1 y JH1-1, los cuales causaron una reducción del crecimiento en Ca de 15 y 24%, 19% en Pl y 25% en Bc; teniendo en cuenta los resultados por patógeno, el aislado JH1-1 fue el más eficiente en inhibir Ca, el aislado JR1-1 redujo 32% el crecimiento de Pl y el aislado JR2-2 disminuyó 39% el crecimiento de Bc. El uso de bacterias benéficas surge como una alternativa para el control de los patógenos fúngicos causantes de pudrición poscosecha en frutilla. El aislado IH1-1 se destacó por ser eficiente en el antagonismo in vitro en ambos métodos evaluados, siendo el posible mecanismo de acción por competencia por sustrato y la producción de compuestos volátiles que reducen el crecimiento de los patógenos. Estudios que evalúen la actividad de este aislado en el control de las pudriciones in vivo están siendo ejecutados para la verificación de su efectividad.

Interacción entre bacterias e insectos mediante compuestos orgánicos volátiles bacterianos

Donald Gergolet^{1,2}, Magalí Beato^{1,2}, Virginia Lara Usseglio^{1,2}, María Paula Zunino^{1,2}, Carolina Vázquez³, María Cecilia Prieto⁴, Romina Pizzolitto^{1,2,3}, Enrique Lucini³, Julio Zygodlo^{1,2}, Carolina Merlo^{1,2,3}

(1) Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Córdoba, Argentina

(2) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal - (IMBIV - UNC, CONICET), Córdoba, Argentina

(3) Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Córdoba, Argentina

(4) Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE - UNNE, CONICET), Corrientes, Argentina

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) presentan una gran diversidad química y pueden actuar como mensajeros de manera intra o interespecífica afectando la conducta de diferentes organismos. El silo de almacenaje de granos es un sistema ecológico en donde la interacción entre bacterias e insectos mediada por COVs puede ser una herramienta de biocontrol. El objetivo fue evaluar los cambios conductuales del insecto *Sitophilus zeamais* (una de las principales plagas de este grano) frente a la exposición de COVs emitidos por cepas bacterianas del género *Enterococcus* aisladas de silo bolsas de granos de maíz. Se evaluó la conducta de los insectos (atracción/repelencia) a través del índice de respuesta (IR) en un olfatómetro de dos vías en donde fueron expuestos a los COVs emitidos por dos cepas de *E. faecium* (49 y 55) y dos de *E. casseliflavus* (M4A y M4G) cultivadas en granos de maíz por 14 días. Se determinó el perfil de COVs producido por cada cepa por espectrometría de masas GC-MS. Los insectos fueron atraídos por los COVs emitidos por las cepas *E. faecium* 55 y 49 (IR: 30,04 e IR: 27,16, respectivamente) y repelidos por los emitidos por *E. casseliflavus* M4G (IR: -39,11). Los COVs detectados fueron acetoína, diacetilo y ácido acético, siendo la acetoína producida en mayor proporción (>70%). Las proporciones de diacetilo y el ácido acético variaron de acuerdo con la cepa. Además, solo en el perfil de la cepa M4G se detectó 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, 2-metil pirazina. Al evaluar la respuesta del insecto frente a los COVs puros, la acetoína produjo atracción (IR: 15,59; concentración 40 µg L⁻¹), el diacetilo no afectó la conducta del insecto y el ácido acético ejerció repelencia (IR: -70,40; concentración 40 µg L⁻¹). Las bacterias emiten una mezcla de COVs que varía de acuerdo con la cepa bacteriana. La diferente proporción de COVs emitidos por las bacterias afectan la conducta del insecto. Se pudo identificar a la acetoína como un COV bacteriano atrayente y al ácido acético como un COV repelente de *S. zeamais*.

Financing: FONCYT PICT-2018-03576

**MICROBIOLOGÍA CLÍNICA, SALUD PÚBLICA E
INNOVACIÓN.**

REVISIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE INTOXICACIONES POR PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS LIGADAS A ALTERACIONES DE COLINESTERASA EN HUMANOS EN LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS EN EL PARAGUAY.

Milciades Recalde¹

(1) Universidad Santa Clara de Asís, Caaguazú, Ciencias de la Salud. Carrera de Bioquímica, Calle 6 es. Mariscal Estigarribia - Barrio San Francisco, Caaguazú, Paraguay

Torres Aguirre D., 1 Villalba Jara M.,¹ Recalde Mora M.,² Blanes González M.,³ Alumnos carrera bioquímica USCADirector de Carrera. Carrera Bioquímica USCACoordinadora de Investigación . Carrera Bioquímica USCA Prof. Dr. Milciades Recalde Moramilciadesrecaldemora@gmail.comPoster Introducción: Hoy en día los plaguicidas organofosforados son altamente utilizados en la industria agropecuaria, situación que se da en el Paraguay, en donde se desempeña actividad agraria en grandes masas y poniendo a los sujetos que se exponen a ellos en un riesgo susceptible de sufrir intoxicaciones con organofosforados. En base a las estadísticas del Centro Nacional de Toxicología (CNTox) del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSP y BS), ubicado en Asunción, capital del Paraguay, teniendo en cuenta desde el año 2005 hasta agosto del 2011, del total de intoxicaciones registradas las correspondientes a plaguicidas alcanzan una media anual de 20,3%, la mayoría de los casos son debido a tentativas de suicidio, y debido a las altas dosis ingeridas muchos de ellos requieren internación y cuidados intensivos. Materiales y Métodos Estudio de revisión bibliográfica retrospectiva, descriptiva de corte transversal, cuyo objetivo general fue analizar las características de intoxicaciones por plaguicidas organofosforados ligadas a alteraciones de colinesterasa en humanos en los últimos 10 años en el Paraguay. Este estudio reveló que la mayoría de las intoxicaciones se vieron en el sexo femenino con un 62% y el masculino con un 38% siendo el principal factor causal la tentativa suicida con el mayor índice registradas en la investigación de la epidemiología de las intoxicaciones en el hogar y la comunidad registrados en el Centro Nacional de Toxicología, 2010-2016. La principal vía de exposición y de ingreso del agente tóxico al organismo es por la vía oral siendo esta la de mayor índice registrado y la vía parenteral la de menor. Las sustancias químicas involucradas en eventos de intoxicaciones corresponde en un 14% a organofosforados siendo este intermedio, el mayor índice de registro es representada por sustancias desconocidas, según la investigación de la evaluación de las características de intoxicaciones ocupacionales atendidas en el CNT 2010-2012. La región del país que registra más casos es la décima primera región que corresponde al departamento Central, siendo la región con menor casos registrados el décimo séptimo que corresponde al departamento de Alto Paraná, reveladas en la investigación de la epidemiología de las intoxicaciones en el hogar y la comunidad registrados en el Centro Nacional de Toxicología, 2010-2016. El grado de severidad de las intoxicaciones corresponde con un 48% a moderado siendo este el mayor y con un 2% a grave siendo este el menor. El tipo de exposición de las intoxicaciones corresponde con un mayor índice de 85% a la aguda y en menor índice de 15% a la crónica. Las intoxicaciones que hayan culminado con la muerte según registros anuales corresponden con un mayor índice al año 2015 y con el menor índice al año 2016.

Palabras claves: plaguicidas, revisión bibliográfica, tóxico.

Prevalencia y caracterización de patotipos de virulencia de aislados clínicos de *K. pneumoniae* causantes de bacteriemia nosocomial en un hospital de tercer nivel en México

Jose Eduardo Toledano Tableros^{1,2}, Catalina Gayosso Vazquez², Maria Dolores Jarillo Quijada², Jose Luis Fernandez Vazquez², Silvia Giono Cerezo¹, Maria del Rayo Morfin Otero³, Eduardo Rodriguez Noriega³, Jose Ignacio Santos Preciado², Maria Dolores Alcántar Curiel²

(1) Instituto Politecnico Nacional, Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Manuel Carpio 532, CP 11350 Alc. Miguel Hidalgo Ciudad de México, México, México

(2) Universidad Nacional Autonoma de México, Laboratorio de Infectología, Microbiología e Inmunología Clínicas de la Unidad de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Dr. Pasteur 93, CP. 06720, Alc. Cuahutemoc, Ciudad de México., México, México

(3) Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", Infectología, Calle Hospital 278, Centro Barranquitas, 44280 Guadalajara, Jal., Guadalajara, México

INTRODUCCIÓN *K. pneumoniae* es considerado un patógeno oportunista, sin embargo se han reportado casos de infecciones severas causadas por *K. pneumoniae* en pacientes no hospitalizados. La caracterización de estos aislados dio como resultado la clasificación en el patotipo clásico (cKP) y el patotipo hipervirulento (hvKP). La principal diferencia entre ambos patotipos es la presencia de sideróforos, el serotipo capsular, el foco de infección y la susceptibilidad antimicrobiana. El objetivo de este estudio fue identificar y caracterizar la presencia de los patotipos cKP y hvKP en aislados clínicos causantes de bacteriemia nosocomial. **MATERIAL Y METODO** El estudio se realizó en aislados de *K. pneumoniae* causantes de infecciones nosocomiales de enero a diciembre de 2017 en el Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde, México. El fenotipo de hiper mucoviscosidad (hmvKP) se determinó con la prueba de formación de filamentos (string test) en agar sangre por duplicado. Se identificaron mediante PCR punto final los serotipos capsulares K1 (magA) y K2 (K2A), el regulador de la producción de capsula (*rmpA*), los sideróforos: enterobactina (*entB*), yersiniabactina (*irp1*), salmoquelina (*iroN*) y la aerobactina (*iutA*) así como las fimbrias tipo 1: *fimA*, los pilis tipo 3: *mrKA* y el pili *ecpRAB*. Se obtuvo el perfil de susceptibilidad de los aislados y se comparó entre los patotipos cKP y hvKP. Se realizó electroforesis en gel de campos pulsados para determinar la clonalidad entre los aislados pertenecientes al patotipo hvKP. **RESULTADOS** Se colectaron 80 aislamientos que representaron el 8% de las bacteriemias nosocomiales de 2017. Se encontraron 2 aislados con fenotipo hmvKP, uno del serotipo K1 y otro del serotipo K2, ambos aislados portadores del gen *rmpA* y únicamente portadores de *entB*, por lo que fueron clasificados como cKP. El patotipo hvKP se encontró en el 25% (20/80) de los aislados, de los cuales el 85% (17/20) fueron portadores de *iutA* y 20% (4/20) de *iroN*, la *entB* se encontró en el 100% de estos aislados. En cuanto a las fimbrias el 95% (19/20) fueron portadores de *mrKA*, mientras que el 85% (17/20) y el 75% (15/20) fueron portadores de *ecpRAB* y *fimA* respectivamente. El 65% (13/20) de estos aislados fueron susceptibles a la gran mayoría de los antibióticos probados, solo el 35% (7/20) fueron multi-drogo-resistentes (MDR) y no estuvieron relacionados clonalmente. El patotipo cKP se encontró en el 75% (60/80) de los aislados al ser portadoras solamente de *entB* y *irp1*. El 13% (8/60) pertenecieron al serotipo K2 mientras que el 1.6% (1/60) fueron del serotipo K1. La portación de fimbrias fue mayoritariamente del tipo 3, 88% (53/60), mientras que los genes *ecpRAB* y *fimA* las portaron el 63% (38/60) y el 62% (36/60) de los aislados respectivamente. En cuanto al perfil de susceptibilidad el 60% (36/60) de los aislados del patotipo cKP fueron MDR. **CONCLUSIONES** El patotipo cKP fue más prevalente y más MDR en comparación con los aislados hvKP. Aunque son pocos los aislados hvKP con MDR estos pueden generar infecciones más severas y con menores opciones terapéuticas en el ambiente hospitalario.

Utilización de PCR en tiempo real con análisis de HRM como herramienta para la rápida identificación de bacterias presentes en implantes biomédicos

Natalia Ramírez Centurión¹, Viviana de Egea¹, Oscar Daniel Salvioni¹, José Pereira Brunelli², María Celeste Vega Gómez¹

(1) Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica, Microbiología, Biología Molecular, Manduvira 635, Asunción, Paraguay

(2) Laboratorio Brunelli, Bacteriología y Micología, San Lorenzo, Paraguay

El empleo de dispositivos implantados quirúrgicamente ha mejorado la calidad de vida y aumentado las tasas de supervivencia de pacientes. Sin embargo, la aparición de infecciones relacionadas con el empleo de ciertos dispositivos permanentes puede conllevar al retiro de estos, si no se identifica rápidamente al causante de la infección para la aplicación de un correcto tratamiento del paciente. Esta identificación rápida se complica debido a que los microorganismos que colonizan los dispositivos son capaces de desarrollarse sobre la superficie de estos formando una biocapa que es determinante en la patogenia de estas infecciones, y que no solo está formada por el microorganismo sino también por una matriz autoproducida que puede variar tanto en morfología como en composición. Los métodos convencionales fenotípicos empleados para el diagnóstico microbiológico de este tipo de infecciones, son poco efectivos o muy lentos para llegar a la completa identificación del patógeno y es por ello que la utilización de métodos moleculares son herramientas útiles para complementar el diagnóstico. La técnica molecular más utilizada es la PCR universal que amplifica el ADN ribosomal 16S para posteriormente ser secuenciado y comparado con bases de datos con el fin de identificar la bacteria presente en la muestra. En este trabajo proponemos que la región V3-V4 del gen 16S que codifica al ARNr amplificado por PCR en tiempo real sea analizado utilizando la técnica de alta resolución de fusión o high-resolution melting (HRM). Esta técnica una vez estandarizada permitió diferenciar patógenos por las formas de las curvas de fusión que generan y que son dependientes de la composición de las bases nitrogenadas de su ADN, sin la necesidad de realizar una secuenciación posterior. Esto permite que se acorte significativamente el tiempo que lleva la identificación del patógeno causal de la infección, ya que se realiza en el mismo termociclador una vez que la PCR en tiempo real ha finalizado, evitando así el envío de la muestra amplificada a una empresa para la secuenciación y posterior espera de los resultados para su análisis correspondiente. La puesta a punto de esta metodología de análisis permitió diferenciar cinco cepas de referencia asociadas a infecciones presentes en implantes biomédicos: *Escherichia coli* (25922), *Enterococcus faecalis* (29212), *Staphylococcus aureus* (29213), *Pseudomonas aeruginosa* (27853) y *Klebsiella pneumoniae* (1705), demostrando que la PCR-HRM es una técnica confiable y eficaz para la rápida detección de estas especies bacterianas y que podrían complementar o en un futuro reemplazar a las prácticas de diagnóstico convencionales.

Financing: Financiado con fondos del proyecto PINV18-933 del programa PROCIENCIA-CONACYT (Paraguay) y el Proyecto FOCEM/MERCOSUR COF N°03/11

Implementación de un sistema de detección de flavivirus en mosquitos

Fátima Cardozo¹, Alejandra Rojas¹, Cynthia Bernal¹, Luis Ferreira², Adrián Díaz³, Malvina Páez¹, Yvalena Guillén¹, Nidia Martínez², Marta Contigiani³, Laura Mendoza¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay

(2) Servicio Nacional de Erradicación al Paludismo (SENEPA), Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Asunción, Paraguay

(3) Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

Los Flavivirus constituyen un problema de salud pública y son transmitidos por artrópodos, principalmente mosquitos. En Paraguay los virus dengue, fiebre amarilla y Zika fueron detectados en infecciones humanas, pero los estudios de flavivirus en mosquitos son aun escasos y, sin embargo, son esenciales para orientar el control de transmisión. Por ello, el objetivo del presente estudio fue la implementación de un sistema de detección de flavivirus en mosquitos en el IICS-UNA. Primeramente, se organizaron capacitaciones en colecta, preparación de pools y procesamiento por técnicas de RT-PCRs convencionales realizadas por expertos internacionales a profesionales locales (bioquímicos y biólogos). Además, se implementaron planillas de registro de datos y de control de transporte de muestras de los lugares de colectas hasta el IICS. Se prepararon en total 201 pools de 1 a 35 mosquitos, cada uno agrupado por especie, localidad, entre otros. Para asegurar la integridad del RNA extraído se realizó la detección de un control interno (Actina-1), siendo todos los pools positivos para el mismo. 91/201 pools fueron positivos para flavivirus. Se realizó la secuenciación de 19/91 pools positivos para flavivirus identificándose en todos los casos flavivirus de insectos (principalmente Culex Flavivirus, cell fusing agents Flavivirus y Kamiti river virus), confirmando así la especificidad de la RT-PCR. Estos resultados sugieren que fue factible implementar el sistema de detección de flavivirus en mosquitos, lo cual podría contribuir a fortalecer la detección y vigilancia de estas virosis y el control de su transmisión.

Financing: Este proyecto fue financiado por el CONACYT a través del Programa PROCIENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e Investigación – FEEI del FONACIDE (14-INV-152).

Evaluación de la presencia de microorganismos en orina en personas sanas mediante urocultivo estándar y expandido

Rafael Sauto¹, Luciana Robino Robino², Paola Scavone¹

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Microbiología, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

(2) Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, UdelaR, Dr. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

Introducción: Clásicamente se consideraba la vejiga un órgano estéril y que las infecciones del tracto urinario (ITU) se relacionaban con bacterias de origen intestinal. La bacteriuria asintomática se define por la presencia en orina de ≥ 100.000 UFC/mL. Algunos trabajos recientes han puesto en evidencia la existencia de una microbiota asociada al tracto urinario en sujetos sanos. En el presente trabajo nos propusimos evaluar la presencia de bacterias en la orina de personas asintomáticas utilizando distintos métodos de cultivo y determinar la presencia de bacterias dentro de las células de vejiga. **Metodología:** La orina de 10 voluntarios sanos se recolectó mediante la técnica de chorro medio. Las muestras se sembraron mediante urocultivo estándar (10 ul de orina en Agar Sangre y Agar Mc Conkey lactosa a 37°C durante 48 hs) y en 3 condiciones diferentes A (100 ul en Agar Sangre/ Mc Conkey lactosa 37°C durante 48 hs), B (10 y 100 ul Agar Sangre y Chocolate, 5%CO₂, 48 hs) y C (10 y 100 ul Agar Sangre Anaerobio, MRS, microaerofilia, 48 hs). De cada condición de cultivo se seleccionaron colonias de distinta morfología y se criopreservaron para su identificación por MALDI-TOF. La presencia de bacterias intracelulares se evaluó mediante una técnica desarrollada por nuestro grupo basada en centrifugación de la orina, eliminación de las bacterias extracelulares y lisado de las células eucariotas. Las bacterias así liberadas se cultivaron en Agar Sangre a 37°C durante 48 hs. Por último, se evaluó la sospecha de bacterias intracelulares por microscopía óptica con May Grunwald Giemsa (MGG), y se confirmó su presencia mediante Microscopía láser confocal (MLC). **Resultados:** Si se compara la presencia/ausencia de crecimiento bacteriano en urocultivo estándar observamos que de las 10 muestras (7 mujeres y 3 hombres), 6 muestras de mujeres desarrollaron microorganismos mientras que tan solo 1 hombre tuvo crecimiento bacteriano en la orina. Si consideramos la presencia/ausencia de una bacteriuria significativa en urocultivo estándar como un recuento mayor a 1×10^5 UFC/ml, observamos que un solo caso, en una mujer, fue positivo. Por otro lado, si consideramos en el sistema de urocultivo expandido (EQUC) la presencia de bacteriuria significativa como un recuento mayor a 1×10^5 UFC/ml observamos 6 muestras positivas provenientes de mujeres. Respecto a la detección de bacterias intracelulares por técnica de cultivo, se observó presencia en 6 muestras de orina, y 3 muestras de esas fueron negativas al urocultivo estándar y EQUC. Con la tinción de MGG y microscopía óptica se evidenció la presencia de células epiteliales, y bacterias sugestivas de estar intracelulares en 7 muestras de orina. Mediante MLC, en 3 de esas 7 muestras se confirmó la presencia de bacterias intracelulares. **Conclusiones:** Estos estudios preliminares indican que la realización de EQUC permite el crecimiento de un mayor número de UFC/ml y de diversidad de microorganismos que el urocultivo estándar, demostrando la existencia de una microbiota urinaria normal. Los aislamientos obtenidos se identificarán por MALDI-TOF. Además, se estudiará la composición del microbioma urinario por secuenciación del ARN ribosomal 16S.

Financing: FCE_2019_155481 ANII

An anaerobic environment drives the sheltering of *Helicobacter pylori* within *Candida* yeast cells.

Kimberly Sánchez-Alonzo¹, Luciano Arellano-Arriagada¹, Cristian Parra-Sepúlveda¹, Humberto Bernasconi², Fabiola Silva-Mieres¹, Víctor Campos¹, Carlos Smith¹, Katia Sáez³, Apolinaria García-Cancino¹

(1) Universidad de Concepción, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

(2) Laboratorio Pasteur, Investigación y desarrollo, Concepción, Chile

(3) Universidad de Concepción, Department of Statistics, Faculty of Physical and Mathematical Sciences, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

Introduction: *Helicobacter pylori* is a microaerophilic pathogen which colonizes the gastric epithelium. It is sensitive to extra-gastric conditions but protects itself from stressing environments forming biofilms, changing its morphology or invading eukaryotic cells, including yeasts. The environmental factors influencing the bacterium-yeast endosymbiotic relationship remain large unknown. This work aimed to determine if oxygen availability stimulated the sheltering of *H. pylori* within *Candida* cells and if this relationship was bacterial or yeast strain dependent. **Materials and Methods:** Four *H. pylori* and four *Candida* strains, co-cultured in Brucella broth plus 5% fetal bovine serum, were incubated under microaerobic, anaerobic or aerobic conditions. Bacteria like bodies (BLBs) within yeast cells (Y-BLBs) were detected by optical microscopy and identification of *H. pylori* was evaluated by fluorescent in situ hybridization and amplifying, by PCR, the *H. pylori* 16S rRNA gene from total DNA extracted from Y-BLBs previously co-cultured with *H. pylori* while BLBs viability was analyzed by SYTO-9 fluorescence. **Results:** Y-BLBs were detected in co-cultures incubated under all conditions: Higher Y-BLBs percentages (62% to 78%) were obtained under anaerobic conditions. Also, higher Y-BLBs percentages were obtained using *H. pylori* J99 and *C. glabrata* strains combinations. Thus, *H. pylori*-*Candida* endosymbiotic relationship is strain dependent. **FISH and PCR results** identified BLBs as intracellular *H. pylori*. **Conclusion:** *H. pylori* harbors within *Candida* yeast cells in the absence of apparent stressing factors; however, stressing conditions, as an anaerobic atmosphere, significantly increased *H. pylori* sheltering within yeasts where they remain viable and bacterium-yeast endosymbiotic relationship is bacterial strain dependent, with a preference for *C. glabrata*.

Financing: This work was supported by Grant VRID-Enlace 218.036.047-1.0, University of Concepcion, Concepcion, Chile.

Neumonías asociadas a *Streptococcus pneumoniae* en menores a 5 años. Paraguay. 2016 /2020

Aníbal Kawabata¹, María Eugenia León¹, Minako Nagai¹, Liliana Rojas¹, Noemí Zárate², Carolina Rojas³, Gloria Gómez⁴, Helena Ortiz⁵, Myrian Leguizamón⁶, Beatriz Soilán⁷, Raquel Blasco⁸, Gustavo Rodríguez⁹, Mercedes Martínez¹⁰, Juan Irala¹¹, Marta González¹², Sofía Busignani¹³, Rosana Ortiz¹⁴, Rosa Portillo¹⁵, Jazmín Pereira¹⁶

(1) Laboratorio Central de Salud Pública

(2) Hospital General Pediátrico Niños de Acosta Ñu

(3) Instituto de Medicina Tropical

(4) Hospital Nacional de Itauguá

(5) Hospital de Clínicas

(6) Instituto de Previsión Social

(7) Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y del Ambiente

(8) Hospital Regional Ciudad del Este

(9) Hospital de Trauma

(10) Hospital General Barrio Obrero

(11) Hospital Militar

(12) Centro Médico Bautista

(13) Laboratorio Díaz Gill

(14) Hospital Regional de Luque

(15) Sanatorio La Costa

(16) Sanatorio Migone

Introducción(OMS/OPS) La neumonía causa principal de mortalidad infantil en el mundo, donde *Streptococcus pneumoniae* (Spn) es agente etiológico más frecuente. En 2015 Murieron 920.136 niños menores de 5 años, constituye 15% de todas las defunciones de niños menores de 5 años en el mundo. La inmunización, evita de 2 a 3 millones de muertes cada año, es una herramienta para reducir la mortalidad infantil. El aumento de la resistencia a los antibióticos es un problema para poder enfrentar a éste tipo de microorganismos, entre ellos penicilina y los macrólidos (erytromicina, claritromicina o azitromicina) de uso vía oral. Es oportuna la evaluación de las características más frecuentes de los serotipos y la susceptibilidad antimicrobiana del *S. pneumoniae*. **Método** Diseño no experimental, enfoque cuantitativo, analítico de corte transversal. Incluyeron aislamientos de Spn asociados a Neumonías bacterianas en menores de 5 años, confirmadas por técnicas fenotípicas y genotípicas en la Sección de Enfermedades Respiratorias y Meníngeas (LCSP), en el marco de la Vigilancia de Meningitis y Neumonías bacterianas en el Paraguay, durante el periodo 2016 a 2020. Evaluado por el Comité de Ética en Investigación del Laboratorio Central de Salud Pública (CEI). **Resultados** La investigación incluyó 202 aislamientos de Spn, la mediana de los niños fue de 2 años (Iq1/Iq3= 1 - 3), 59.9% y 35.2% de las notificaciones fueron de Central y Asunción respectivamente. La mayor frecuencia fue de 32.8%(2019) y el menor 5.5%(2020). Fuentes 35.6% en sangre y 36.6% líquido pleural. 62.4% de los serotipos (Spn) están incluidos en la vacuna. Los serotipos más frecuentes 19A(30.2%), 3(23.1%), 6C(5.5%) y 15A(4.5%). La resistencia(R%) a Erytromicina(Ery) varió de 33.3%(2016) a 54.5%(2020), Tetraciclina(Tet) de 30.0%(2016) a 72.7%(2020), Trimetoprima-sulfametoxazol(Sxt) de 25.0%(2016) a 45.5%(2020), Penicilina(Pen) 2.5%(2016) a 0%(2020); no se encontraron resistencia a Cefotaxima/Ceftriaxona (Ctx/Cro) ni a Levofloxacina(Lev). La resistencia a Ery fue de 45.0% en serotipo 19A y 10% en 6C. A la Tet fue de 29.9% (19A) y 37.4%(3). A Sxt de 49.1% (19A) y 7.3% (16F y 24F). **Conclusión** La mayor frecuencia de las neumonías por Spn fue en el año 2019 y la menor en 2020. El 50% de las infecciones detectadas son niños entre 1 y 3 años. Las notificaciones fueron principalmente dpto. Central y Asunción. Los serotipos incluidos en la vacuna PCV13 (19A, 3) fueron los más frecuentes y constituyeron más de la mitad de los casos. Se observó un aumento de la resistencia a Ery, Tet y Sxt, y no se encontraron resistencia a Ctx/Cro y Lev. Tampoco se observó en Pen, en los últimos años. La resistencia a la Ery y Sxt fue principalmente los serotipos 19A, y en Tet a 19A y 3, Una Vigilancia Laboratorial Activa (fenotípica/genotípica) aporta datos oportunos para el manejo epidemiológicos que ayudan a evitar muertes prevenibles en nuestra sociedad. También el uso correcto de los antibióticos es fundamental en la lucha contra la generación de bacterias cada vez más resistentes.

In silico analysis and recombinant expression of SARS-CoV-2 Spike (S) protein in Escherichia coli

Paulo Henrique Guilherme Borges¹, Barbara Gregio¹, Maria Fernanda Astun Dionísio¹, Emanuella de Castro Andreassa², Eliandro Reis Tavares¹, Tatiana de Arruda Campos Brasil de Souza², Sueli Fumie Yamada-Ogatta¹, Lucy Megumi Yamauchi¹

(1) Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Rodovia Celso Garcia Cid, PR445, km 380, Campus Universitário, Londrina, PR, Brasil

(2) Instituto Carlos Chagas, Laboratório de Proteômica Estrutural e Computacional, FIOCRUZ-PR, Rua Prof. Algacyr Munhoz Mader, 3775, Curitiba, PR, Brasil

SARS-CoV-2, which causes COVID-19, is a new coronavirus identified after an outbreak on the seafood market in Wuhan, China, in December 2019. This disease quickly became from a local epidemic to a pandemic, which persists to the current days. This virus belongs to beta-coronavirus family, and it has structural proteins - nucleocapsid (N), envelope (E), membrane (M) and spike (S) - and non-structural in its viral structure. S and N protein are the most studied proteins, some studies have been conducted to comprehend their function in the immune system activation in order to develop new diagnosis methods and produce new vaccines, such as, ChAdOx1-S/nCoV-19 [recombinant] (Astrazeneca/FioCruz) and SCB-2019 (Sichuan Clover Biopharmaceuticals)). This work aims to perform in silico analysis of SARS-CoV-2 S protein and its expression in Escherichia coli. The amino acids/nucleotides sequences of S protein were retrieved in FASTA model from NCBI server (National Center for Biotechnology Information), through the search for "Spike SARS-CoV-2". The S protein was analyzed in silico for sequence homology and epitopes prediction - T and B lymphocyte epitopes were analyzed by the Epitope Database program. To express the immunogenic region of S protein, the gene was artificially synthesized and subcloned into pET28a vector. Escherichia coli BL21-Star (DE3) and BL21-plysS competent cells were transformed with the S protein-pET28a plasmid. To produce the recombinant S protein, transformed bacteria was growth in LB supplemented with 1mM of IPTG in three different temperatures: 20 °C, 35 °C e 37 °C. The expression of the recombinant antigen was verified by SDS-PAGE (total fraction and soluble fraction) and confirmed by western blot with anti-histidine antibody. The result of in silico analysis showed that the S protein amino acid sequences: 217-287, 524-598 and 601-640 are the most immunogenic regions and together, they have a molecular weight of 39 kDa. Escherichia coli BL21-Star (DE3) was the best host to produce the recombinant protein. The standardizing assays for protein production indicated that the 37 °C is the ideal temperature to yield it in high amount. When the SDS-PAGE was performed, a recombinant 39-kDa protein was only observed in the total fraction of proteins, showing that it is an insoluble protein. The recombinant S protein was confirmed by western blot. Finally, it can be concluded that in silico analysis is useful tool to predict epitopes and design engineered protein suitable to diagnosis and therapy. To express the recombinant SARS-CoV-2 S protein, was possible imply that the greater results were observed in E. coli BL21-Star (DE3), in a temperature of 37°C.

Financing: CNPq, CAPES.

DETECCIÓN DE FACTORES VIRALES Y SEROLÓGICOS EN MUJERES POSITIVAS PARA VIRUS DE PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO ONCOGÉNICO CON Y SIN NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL GRADO 3 O MÁS.

Tania Alfonzo¹, Pamela Mongelos¹, Adriana Valenzuela¹, Hernán Barrios¹, Fatima Cardozo¹, Mariel Correa², María Celeste Colucci², Jorge Basiletti², Ana Soilán^{3,4}, María Isabel Rodríguez¹, Amalia Castro¹, Marina Ortega^{3,5}, Malvina Paez¹, Armando Baena⁶, Tatiana Ramírez⁶, Mariluz Rol⁶, Joan Valls⁶, Elena Kasamatsu¹, María Alejandra Picconi², Rolando Herrero^{6,7}, Maribel Almonte⁶, Laura Mendoza¹

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

(2) Servicio Virus Oncogénicos, Laboratorio Nacional y Regional de Referencia de HPV, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas- ANLIS "Dr. Malbrán", Buenos Aires, Argentina.

(3) Hospital Nacional, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSP-BS), Itaugu, Paraguay.

(4) Hospital Materno Infantil de San Lorenzo, MSP-BS, San Lorenzo, Paraguay.

(5) Instituto Nacional del Cáncer, MSP-BS, Capiat, San Lorenzo.

(6) International Agency for Research on Cancer, Early Detection, Prevention & Infections Branch, Lyon, France.

(7) Agencia Costarricense de Investigaciones Biomédicas, San José, Costa Rica.

El virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) desempeña un papel fundamental en el desarrollo de Neoplasia Intraepitelial Cervical grado 3 o más (NIC3+), siendo VPH 16 el más frecuente. Aun no contamos con una prueba ideal que permita la identificación de mujeres VPH-AR positivas con mayor riesgo de desarrollar NIC3+ y que precisen de un seguimiento más cercano, por ello, varios estudios intentan identificar factores virales (carga viral, tipos virales) o serológicos (anticuerpos) que puedan ser utilizados. El objetivo del presente estudio de corte transversal fue determinar la frecuencia de carga viral relativa por Captura Híbrida 2 (CH2), tipos de VPH-AR por PCR-RLB y de anticuerpos totales dirigidos a la proteína L1 del VPH16 por inmunocromatografía en muestras de cepillado de cuello uterino y de suero, respectivamente, de mujeres VPH-AR positivas con y sin diagnóstico de NIC 3+, 2014-2019. Primeramente, se realizó un censo de territorios sociales de San Lorenzo e Itaugua a fin de identificar mujeres potencialmente elegibles, de 30 a 64 años, quienes fueron invitadas vía telefónica/mensajes/vecinas/amigas a acudir a la Unidad de Salud Familiar o puestos de salud. Participaron del tamizaje de cáncer de cuello uterino (CCU) con prueba de VPH-AR y Pap un total de 4.120 mujeres sin historia de CCU, sin tratamiento para pre-CCU en los últimos 6 meses, sin histerectomía y sin planes de mudarse fuera del área de estudio. Las mismas firmaron un consentimiento informado en la visita inicial. Del total, 566 mujeres fueron VPH-AR positivas por CH2, de las cuales 516 mujeres asistieron a su control colposcópico. Finalmente, 306/516 mujeres cumplieron con los criterios de volumen de muestra de sangre suficiente para realizar la detección de anticuerpos y fueron incluidas en el presente estudio. 39/306 mujeres tuvieron diagnóstico de NIC3+ (34 NIC3, 5 cáncer), siendo VPH 16 el genotipo más frecuente (35,9% IC95% 21,2%-52,8%) seguido de VPH 31 (20,5% IC95% 9,3%-36,5%). Además, se observó un aumento de frecuencia de VPH 16 del 8,9% en mujeres sin NIC 3+ al 35,9% con NIC 3+. La positividad de anticuerpos totales para VPH16 fue ligeramente superior en mujeres diagnosticadas con NIC3+ respecto <NIC3, pero sin alcanzar significancia estadística (17,9% IC95% 7,5%-33,5% vs 13,5% IC95% 9,6%-18,1%, respectivamente). Estos resultados son similares a lo reportado previamente por otros autores quienes observaron una inmunidad baja ante la infección natural por el VPH en cuello uterino. Al mismo tiempo, se observaron mayores valores de; carga viral relativa (intermedia o mayor) en 82,1% vs 62,6% (p=0,017), infecciones con VPH 16/18 en 46,1% vs 17,6% (p=0,00005), de VPH 16/18/45 en 48,7% vs 21,7% (p=0,0003) y de VPH 16/18/45/33/31/52 en 84,6% vs 45,7% (p=0,000006), en mujeres con NIC3+ vs mujeres sin NIC3+, respectivamente. Estos resultados sugieren que la detección de valores de carga viral relativa intermedia o mayor, y/o de tipos virales principalmente VPH16/18, podrían identificar mujeres VPH-AR positivas que precisarían realizarse un seguimiento más cercano a fin de fortalecer la detección precoz de NIC3 y su tratamiento, con miras a prevenir el desarrollo de cáncer invasor.

Financing: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-CONACYT (Proyecto Código: PINV 18 256), Paraguay, Agencia Internacional de Investigación en Cáncer, Organización Mundial de la Salud (IARC, OMS), Francia.

Genómica comparativa de aislamientos clínicos Colombianos de Salmonella Typhimurium Variante Monofásica

Paloma Cuenca Arias^{1,2}, Lucy Angeline Montaña¹, José Miguel Villarreal⁴, Nelson Enrique Arenas³, Magdalena Wiesner Reyes¹

(1) Instituto Nacional de Salud, Grupo de Microbiología, Bogotá, Colombia

(2) Universidad Antonio Nariño, Estudiante de Maestría en Bioquímica, Bogotá, Colombia

(3) Universidad Antonio Nariño, Bogotá, Colombia

(4) Universidad Nacional de Colombia, Grupo de Investigación en enfermedades Infecciosas, Bogotá, Colombia

Introducción: Salmonella Typhimurium variante Monofásica, STVM (1,4,5,12:i:-) carece de la segunda fase flagelar, asociada con la pérdida de algunas regiones genéticas a lo largo del cromosoma bacteriano, la adquisición de elementos de resistencia a antibióticos y tolerancia a metales pesados. A nivel global se ha descrito la sucesiva aparición de clones dominantes diferenciados por secuenciotipo, fagotipo y multidrogoresistencia (MDR). En Colombia, el programa de vigilancia por laboratorio de Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) del Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud, reportó que, STVM ocupa el sexto lugar entre los 20 serovares aislados con mayor frecuencia de Salmonella spp. entre 1997 a 2018. Con el fin de identificar particularidades de los aislamientos colombianos y confirmar el tipo de clon circulante a nivel nacional, el objetivo del presente estudio fue caracterizar 20 aislamientos clínicos colombianos de STVM mediante secuenciación de genoma completo y así conocer el acervo genético de estos aislamientos en el país. **Metodología:** Se secuenciaron por genoma completo 20 aislamientos clínicos colombianos de STVM. La comparación de los genomas y análisis filogenéticos se realizó alineando los contigs contra los genomas de referencia: S. Typhimurium LT2 (AE006468) y los clones STVM de origen Español (DRR106818), Europeo (ERR985368) y Estadounidense (ABAO01000000) en el programa Geneious Prime v2021.0.3. Los profagos se identificaron con PHASTER (<http://phaster.ca/>), los genes de virulencia y resistencia al igual el secuenciotipo se determinaron con los programas SPIs Finder, ResFinder, MGE, MLST (<http://www.genomicepidemiology.org/>). Se realizó la búsqueda de mutaciones en genes flagelares con la herramienta bioinformática PATRIC (<https://www.patricbrc.org/>). **Resultados:** Se identificaron los linajes ST19 (n=13), ST34 (n=3) y ST7478 (n=2) en los aislamientos STVM. La comparación con las cepas referencia evidencia un reordenamiento de genes y adquisición de elementos genéticos móviles independiente del linaje clonal. En los 20 aislamientos de STVM, los resultados sugieren ausencia de los profagos característicos de Salmonella LT2 y la presencia de otros profagos como P22, Sal3, ST104. Se identificaron un total de 19 genes de resistencia a 7 familias de antibióticos: tetraciclinas (n=11), fenicoles (n=10), beta-lactamasas (n=6), sulfonamidas (n=5), aminoglucósidos (n=20), lincosamidas (n=1), quinolonas (n= 5). Se identificó la presencia del plásmido pSTV en (n=5), pSTV híbrido (n=12) y otros plásmidos de resistencia (IncQ1, IncI1, IncHI1A, ColpVC), y la ausencia del operón de virulencia spvRABCD en el 15% de los aislamientos (n=3). En la búsqueda de mutaciones en genes flagelares algunas proteínas como FlhF presentan un cambio A356T (n=3) y un aparente cambio en el marco de lectura en FlhD (n=1). **Conclusión:** Se observó la pérdida de profagos propios de S. Typhimurium LT2 y una alta variabilidad de plásmidos. El 60% de los aislamientos son MDR conteniendo de 3 a 6 familias de antibióticos. Se evidencian mutaciones en algunas proteínas flagelares implicadas en el mantenimiento del anillo flagelar y un regulador de transcripción de varios operones flagelares. Los resultados sugieren un proceso de adaptación de la nueva serovariedad independiente del linaje clonal, fuente u origen geográfico.

Financing: Financiado por el proyecto Colciencias SIGP 210471250745, fondos internos Instituto Nacional de Salud y la Universidad de Liverpool en colaboración con el Proyecto: 10,000 Salmonella Genomes.

EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO DE CUATRO PRUEBAS INMUNOCROMATOGRÁFICAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE SARS-COV-2

Leonida Ruiz Diaz¹, Sandra González¹, Geronimo Ortellado¹, Carmen Arellano¹, Shirley Villalba¹, Maria liz Bobadilla¹, Maria José Ortega¹, Maria Liz Gamarra¹, Cynthia Vazquez¹

(1) Laboratorio Central de Salud Pública, Departamento de Virología, Asunción, Paraguay

Introducción: La técnica molecular estándar para detectar SARS-CoV-2 es la transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (rRT-PCR). Sin embargo, se requiere incluir de modo complementario otras pruebas que disminuyan el tiempo de espera entre la toma de muestras y la entrega de resultados, con la finalidad de descartar casos sospechosos, mejorar el pronóstico clínico y contener el contagio de la infección. Existen pruebas capaces de identificar antígenos virales en la nasofaringe durante la primera semana de la infección como son las pruebas inmunocromatográficas, enzimoimmunoensayos, inmunofluorescencia, etc. Estas pruebas constituyen un método auxiliar de diagnóstico de COVID-19, que ofrece la ventaja de no requerir equipamiento específico; sin embargo, son menos sensibles que la rRT-PCR, pero más rápidas y fáciles de implementar en laboratorios clínicos. **Objetivo:** Evaluar el desempeño de cuatro marcas de ensayos inmunocromatográficos utilizados para la detección de antígeno Sars-Cov-2 a partir de muestras de hisopados nasofaríngeos que ingresaron al Laboratorio Central de Salud Pública, comparando con rRT-PCR como método de referencia. **Materiales y métodos:** Las cuatro pruebas evaluadas son ensayos de detección rápida de antígenos por inmunocromatografía de flujo lateral; a continuación, denominadas como Prueba I, II, III y IV. Para cada prueba se seleccionaron 200 muestras respiratorias obtenidas de pacientes con síntomas o sospecha de infección por Sars-Cov-2 que fueron sometidas a las pruebas moleculares de rRT-PCR para la detección del virus. Cada panel estaba compuesto por 60-70% de muestras positivas y 30-40% de muestras negativas. Los parámetros evaluados fueron sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) y concordancia. **Resultados:** En cuanto a los parámetros evaluados, en la prueba II se obtuvo la sensibilidad más baja (47,4%) y en la prueba III la más alta (77,1%); la especificidad más baja fue de la prueba I (97,4%) mientras que las otras tres marcas obtuvieron el 100%. El VPP más bajo fue en la prueba I (96,7%) mientras que las otras tres fueron del 100%. La concordancia de las cuatro pruebas varió entre 68,4-84,8%. **Conclusión** Entre las pruebas evaluadas, la prueba III fue la de mejor desempeño. En general, la detección de antígenos por método inmunocromatográfico presenta una alta variabilidad en la sensibilidad, con buenos parámetros de especificidad y VPP, por lo que puede ser usada como criterio de confirmación en conjunto con la definición de caso, la historia clínica y los antecedentes epidemiológicos. Teniendo en cuenta que un resultado negativo de un paciente con elevada sospecha clínica y epidemiológica debe repetirse y no ser usado para descartar completamente un caso.

IMPACTO DE LA PANDEMIA COVID-19 EN EL DIAGNOSTICO LABORATORIAL DE LA TUBERCULOSIS

Rosmary Franco¹, Rossana Franco¹, Daniel Vazquez¹, Gerónimo Ortellado¹, Verónica Rojas¹, Dorotea Bergen¹, Belén Jara¹, Margarita Godoy¹, Ofelia Cuevas¹, Pilar Muñoz¹

(1) Laboratorio Central de Salud Pública, Departamento de Tuberculosis, Av Venezuela casi Tte. Ecurra, Asunción, Paraguay

Introducción: La tuberculosis es una enfermedad transmitida por vía aérea, cuyo agente etiológico *Mycobacterium tuberculosis* fue el principal causante de muertes en el mundo como único agente infeccioso hasta ser desplazado por el SARS-Cov-2. Debido a la pandemia OMS emitió recomendaciones en abril del año 2020 para los laboratorios de diagnóstico de tuberculosis, que incluían medidas adicionales de bioseguridad para proteger a los trabajadores, como uso de Equipo de Protección Personal (EPP) adecuado que incluía respirador N95 y Cabina de Bioseguridad (CBS) según la técnica a realizarse, que muchos servicios no disponían. La OMS también recomendó apoyar al diagnóstico y vigilancia del Covid-19 desde las redes de laboratorios de TB, incluyendo el uso del Xpert. La baciloscopía, cultivo y Xpert MTB/RIF son las técnicas diagnósticas realizadas en la Red Nacional de Laboratorios de TB del país. Los primeros casos de Covid-19 en el país se registraron en marzo del 2020. Las recomendaciones emitidas por OMS condujeron a la suspensión de muchos servicios hasta la compra y suministro de EEP y readecuación de las áreas con CBS instaladas y certificadas. La magnitud del impacto de la pandemia podría reflejarse en la diferencia de pruebas diagnósticas no realizadas. **Objetivo:** Determinar el impacto de la pandemia por COVID-19 en el diagnóstico de la tuberculosis por baciloscopía, cultivo y Xpert MTB/RIF durante el año 2020. **Materiales y métodos:** Se analizaron y compararon las estadísticas anuales de las Redes Nacionales de Baciloscopía (131 servicios), Cultivo (13 laboratorios) y Xpert MTB/RIF (16 laboratorios) entre los años 2015 y 2019 con el año 2020. **Resultados:** Al comparar el promedio de pruebas realizadas entre los años 2015-2019 con el 2020 se obtuvieron los siguientes resultados: a) para baciloscopías diagnósticas: 72.118 vs 16.711, la diferencia es de 55.407 baciloscopías menos; b) para cultivo: 15.966 vs 11.287, 4.679 cultivos menos; c) para Xpert MTB/RIF: 3.490 vs 5.171 test con una diferencia de 1681 más realizados en el 2020. Para evaluar la contribución global al diagnóstico de las tres técnicas entre los períodos estudiados encontramos 91.574 vs 33.169, con una diferencia de 58.405 test no realizados en el 2020. **Conclusión:** La pandemia impactó negativamente en el diagnóstico como se evidencia en la importante disminución de pruebas por baciloscopía y cultivo. En cuanto al Xpert MTB/RIF, si bien se realizaron 1681 pruebas más en 2020, es importante resaltar que en el 2019 se encontraban operativos 6 equipos, mientras que en 2020 se contó con 16 equipos con operatividad plena. En realidad, el aumento de test realizados no fue proporcional a la cantidad de equipos incorporados, además algunos Xpert se usaron para Covid-19 y tuberculosis. La pandemia impactó negativamente en el diagnóstico de la tuberculosis en nuestro país, fenómeno observado en todo el mundo, como lo reconoció la OMS en octubre de 2020. Esto puede llevar a un retroceso en los logros de los últimos años lo que obligaría a los gobiernos a establecer estrategias para enfrentar esta situación en el futuro próximo.

DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS IN THE PUBLIC HEALTH SYSTEM IN SOUTHERN EXTREME BRAZIL: HOW DID THE COVID-19 PANDEMIC IMPACTED ON THE DETECTION OF NEW TUBERCULOSIS CASES?

Mariana de Souza¹, Ana Bárbara Silva¹, Felipe Vargas¹, Denise Brião², Carolina Martinato², Pedro da Silva¹, Ivy Ramis¹

(1) Universidade Federal do Rio Grande, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rio Grande, Brazil

(2) Laboratório Municipal de Análises Clínicas, Secretaria de Município da Saúde, Rio Grande, Brazil

Since undiagnosed tuberculosis (TB) cases contribute to the chain of transmission of *Mycobacterium tuberculosis*, understanding the impact of the COVID-19 pandemic on the detection of TB cases is essential for establishing TB control strategies. The aim of the study was to evaluate the influence of the COVID-19 pandemic on the laboratory diagnosis of TB in Southern extreme Brazil. A data survey was carried out in the database of laboratories that perform TB diagnosis for the public health system in the city of Rio Grande (Rio Grande do Sul, Brazil). In primary care, the number of patients tested for TB in 2019 and 2020 was 948 and 473, respectively, representing a decrease of 50.1%. In tertiary care, 420 and 262 patients were tested for TB in 2019 and 2020, respectively, representing a decrease of 37.6%. The months of 2020 with the largest variation of patients tested, compared to 2019, were June (-86.9%) and July (-69.6%) for primary and tertiary care, respectively. It is important to emphasize that during this period, there was an increase in notifications of COVID-19 cases and deaths in the city, resulting in the adoption of rigid social distancing strategies. In addition, as a result of the reduction in diagnostic investigations for TB, there was a reduction in the number of new TB cases diagnosed in public health system of Rio Grande: a 46% decrease in primary care and a 30.9% decrease in tertiary care. Although efficient to reduce the spread of SARS-CoV-2, strategies such as limiting the movement of people and discouraging visitation to health services, in the absence of severe symptoms of COVID-19 to avoid crowding, are among the causes of the reduction of patients tested for TB, especially in primary care. It is recognized that undiagnosed TB cases and, consequently, without adequate therapy, will contribute to an increase in TB mortality in the next years. Therefore, the importance of maintaining monitoring of TB diagnosis in different scenarios is emphasized, as well as the adoption of strategies to compensate for missed diagnoses, such as accelerating the active search for cases and tracing contacts.

Financing: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brazil (CAPES) - Finance Code 001.

DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN MUESTRAS DE HISOPADO RECTAL DE PACIENTES DEL HOSPITAL GENERAL PEDIÁTRICO “NIÑOS DE ACOSTA ÑU” DE DICIEMBRE 2019 A NOVIEMBRE DEL 2020”

Noemí Zárate¹

(1) Hospital Pediátrico Niños Acosta Ñu, San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay

Zárate Noemí, López Evelyn, Arguello Rocío, Colmán Jessi, Agüero Mirna, Olmedo Martín Laboratorio de Bacteriología, Hospital General Pediátrico “Niños de Acosta Ñu” RESUMEN Introducción. El constante aumento de Enterobacterales y otras bacterias productores de carbapenemasas se constituye en un problema de Salud Pública a nivel mundial, por el impacto generado en la mortalidad de los pacientes. El tracto gastrointestinal es el principal reservorio de este tipo de microorganismos, por lo cual, la colonización rectal se convierte en un importante factor de riesgo para el desarrollo de posteriores infecciones. Una de las estrategias de vigilancia epidemiológica activa, es la búsqueda de pacientes colonizados, a través de cultivos de tamización para detectar estos microorganismos multirresistentes. Objetivo. Detectar la presencia de carbapenemasas en hisopados rectales de pacientes del Hospital General Pediátrico “Niños de Acosta Ñu” de diciembre 2019 a noviembre 2020. Materiales y Métodos. Estudio observacional descriptivo, retrospectivo de corte transversal. Se analizaron 67 muestras de hisopados rectales utilizando el equipo de detección rápida de biología molecular GeneExpert y técnicas manuales para la detección de carbapenemasas. Resultados. De las 67 muestras analizadas con el GenExpert y métodos manuales; se detectaron las siguientes carbapenemasas: KPC: 6 (8,96%) en *Klebsiella pneumoniae* (Kpn) y *Enterobacter cloacae*; NDM+KPC: 8 (11,94%) en *Escherichia coli* (Eco), *Enterobacter cloacae* y Kpn; NDM+ OXA48: 2 (2,99%) en Kpn y Eco; VIM: 1 (1,49%) en *Pseudomonas putida*; NDM+MBL: 4 (5,94%) en Eco, Kpn *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans*; NDM+KPC+MBL: 1 (1,49%) en Eco; NDM: 8 (11,94%) en las diversas Enterobacterales mencionadas; no se detectaron carbapenemasas en 37 (55,20%) muestras. Conclusión: se han detectado diversos tipos de carbapenemasas en Enterobacterales y otras bacterias, en algunos casos más un de tipo de Carbapenemasa, quedando la duda de que puedan tratarse de poblaciones diferentes de la misma especie, cada una portando un mecanismo diferente. De ahí la importancia de la confirmación de que la coproducción de las carbapenemasas corresponda a una misma cepa. Palabras claves: Carbapenemasas, KPC: *Klebsiella pneumoniae* productor de carbapenemasa, MBL: metalo-betalactamasa, NDM: nueva Delhi metalo-betalactamasa

Epidemiología molecular de *Neisseria meningitidis* en Paraguay (2009-2018)

María Eugenia León¹, Aníbal Kawabata¹, Cristina Minako Nagai¹, Liliana Rojas¹, Gustavo Chamorro², Natalie Weiler¹, María Verónica Orrego¹, Lucía Jazmín Martínez¹, Ana Paula Silva de Lemos³

(1) Laboratorio Central de Salud Pública, Paraguay

(2) Programa Ampliado de Inmunizaciones, Paraguay

(3) Instituto Adolfo Lutz, Brasil

Introducción: *Neisseria meningitidis* es el agente responsable de enfermedades invasivas como meningitis y septicemias, frecuentes en niños y adultos jóvenes, en todo el mundo. La enfermedad meningocócica invasiva (EMI) que continúa siendo un grave problema de salud pública en todo el mundo, con un gran impacto social y una importante morbilidad y mortalidad en todos los grupos de población, sobre todo en niños y adultos jóvenes. La secuenciación del genoma completo (WGS) es actualmente el método más rentable para adquirir información completa sobre patógenos, haciendo posible nuevos enfoques para el seguimiento epidemiológico de cepas y clones de aislamientos, incluida la capacidad de aplicar esquemas MLST en una escala de genoma completo. **Objetivo:** Caracterizar aislamientos de *Neisseria meningitidis* circulantes en el Paraguay durante 2009-2018 identificando los complejos clonales y los factores de virulencia aplicando la técnica de secuenciación de genoma completo. **Metodología:** Estudio observacional descriptivo retrospectivo de corte transversal. Aplicación de técnicas moleculares de secuenciación de genoma completo para tipificación de secuencias multilocus y detección de factores de virulencia (antígenos no capsulares), aisladas de EMI en niños y adultos, incluidas en el marco de la Vigilancia de Meningitis Bacterianas en Paraguay durante el periodo 2009-2018. **Resultados:** Se identificaron un total de 8 complejos clonales (cc) de 66 aislamientos ST-11 complex (n=17), ST-103 complex (n=29), ST-35 complex (n=8), ST-167 complex (n=4), ST-41/44 complex (n=3), ST-865 complex (n=3), ST-32 complex (n=1) y ST-60 complex (n=1). Se encontró un nuevo ST 15914 correspondiente al serogrupo C y al complejo clonal ST-103 complex. Los Antígenos no capsulares fHbp encontrados fueron 87,0% (n=57) (subfamilia A / variante 2), 9,0% (n=6) (subfamilia A / variante 3) y 3,0% (n=2) (subfamilia B / variante 1). El péptido NadA se detectó en un 12,0% y se asoció exclusivamente al ST-11 complex. Los péptidos NHBA encontrados fueron el 3 (n=1), 9 (n=4), 21 (n=8), 24 (n=35), 29 (n=15) y 58 (n=1). **Conclusión:** Este es el primer estudio sobre diversidad genética y prevalencia de factores de virulencia en aislamientos de *N. meningitidis* en Paraguay. El aumento del serogrupo C se debió al complejo clonal ST-103 complex. Se resalta el hallazgo de un nuevo ST (15914), este linaje se introdujo en Paraguay el año 2016. Es importante la caracterización continua de los aislamientos meningocócicos para determinar las estrategias de intervención en salud pública.

Financing: Este proyecto es financiado por el CONACYT a través del Programa PROCIENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e investigación – FEEI del FONACIDE

BÚSQUEDA DE VIRUS ENCEFALÍTICOS (WNV, SLEV Y VEEV) EN SUEROS DE PACIENTES CON SOSPECHA DE SÍNDROME FEBRIL AGUDO Y TRASTORNOS NEUROLÓGICOS

Fátima Macchi¹, Oliver Caballero¹, María Alexandra Mercado¹, Alejandra Rojas², Jesse Waggoner³, Cynthia Bernal², Malvina Páez¹, Laura Mendoza¹, Adriana Valenzuela¹, Yvalena de Guillén², Fátima Cardozo¹

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Salud Pública, Rectorado UNA, Dr. Cecilio Baez casi Dr. Gaspar Villamayor, San Lorenzo, Paraguay

(2) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Producción, Rectorado UNA, Dr. Cecilio Báez casi Dr. Gaspar Villamayor, San Lorenzo, Paraguay

(3) División de enfermedades infecciosas, Medicina, Escuela de Medicina Universidad de Emory, 550 Peachtree Street Northeast, Atlanta, Estados Unidos

Los arbovirus representan una carga significativa para la salud pública y las economías locales debido a su capacidad de causar epidemias impredecibles y generalizadas. Los cuadros clínicos que pueden presentar los pacientes son muy variados y estos pueden ir de leves o graves. La principal presentación clínica es el síndrome febril, mientras que entre las manifestaciones graves se encuentran las afecciones neurológicas como la meningitis, encefalitis y otros trastornos que podrían producir la muerte. Los virus del Nilo Occidental (WNV), de la Encefalitis de San Luis (SLEV) y de la Encefalitis Equina Venezolana (VEEV) pueden producir enfermedades febriles agudas que podrían ser confundidas con el dengue u otras patologías; así también pueden causar trastornos neurológicos graves. Si bien estos virus todavía no han sido detectados en nuestro país, existen reportes de circulación de los mismos en países limítrofes a nuestro territorio. Debido a esto y teniendo en cuenta, que el Paraguay cuenta con las condiciones favorables para propiciar el mantenimiento del ciclo de transmisión de estos virus, el objetivo del presente estudio fue realizar la búsqueda de arbovirus encefalíticos (WNV, SLEV, VEEV) en sueros de pacientes con enfermedad febril aguda y trastornos neurológicos del Departamento Central. Se llevó a cabo un estudio observacional descriptivo de corte transversal. Se incluyeron muestras de suero seleccionadas de la Seroteca del Departamento de Producción del IICS-UNA. Se incluyeron 405 muestras de suero de pacientes con síndrome febril agudo (hasta 7 días de síntomas) reclutados en los años 2019 y 2020 que presentaron 2 o más de los siguientes síntomas: fiebre, cefalea intensa, dolor articular en más de una articulación, dolor muscular difuso y conjuntivitis. Además, fueron incluidas 57 muestras de suero de pacientes con trastornos neurológicos reclutados en los años 2019-2020, cuyos diagnósticos probables correspondían a encefalitis (14), síndrome Guillain Barré (11), meningitis (9), síndrome confusional (7), neuroinfección (5), síndrome convulsivo (5), meningoencefalitis (3) y neuritis óptica (3). Las muestras (N=462) fueron analizadas mediante un ensayo de RT-PCR en tiempo real a fin de detectar de forma simultánea los virus WNV, SLEV y VEEV. No fueron detectadas muestras positivas para los virus estudiados. Sin embargo, es importante realizar la búsqueda sostenida de estas virosis a fin de conocer la circulación y el impacto de las mismas en la salud pública de nuestro país. La detección precoz cumple un rol fundamental en el ámbito de la vigilancia ya que de esta forma se podrían evitar posibles brotes de arbovirosis. Además, es importante la realización de estudios serológicos en hospedadores (humanos y equinos) y de detección viral en posibles vectores para tener información completa sobre circulación de estos virus en Paraguay.

Financing: Este proyecto es financiado por el CONACYT a través del Programa PROCENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e investigación – FEEI del FONACIDE (PINV 18-732)

Frecuencia de Detección de virus y hongos causantes de infecciones del Sistema Nervioso Central en pacientes del Hospital de Clínicas de julio del 2019 a enero del 2021 por PCR múltiple

Rogelio Daniel González Cardozo¹, Juana Ortellado de Canese¹, Ana Cuevas¹, Ana Zubeldía¹, Graciela Lird¹, Rocio Arguello¹, Mirtha Casco¹, Flavia Ortiz¹, Francisca Gimenez¹, Gladys Velázquez¹

(1) Laboratorio Central del Hospital de Clínicas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Médicas-Universidad Nacional de Asunción, Av. Mcal López e/ Cruzada de la Amistad - Campus de la UNA, San Lorenzo, Paraguay

Las infecciones del Sistema Nervioso Central (SNC) en especial las meningoencefalitis son consideradas de urgencia y precisan de un diagnóstico rápido y tratamiento para minimizar la morbilidad y la mortalidad. Con el avance de la biología molecular en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas con agentes etiológicos virales y micóticos que tienden a no aislarse en medios de cultivos convencionales en caso de los virus o tienen un crecimiento lento como los hongos, se han desarrollado nuevas tecnologías como la PCR Múltiple logrando un diagnóstico rápido y preciso en las infecciones del SNC. El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de patógenos virales y micóticos detectados por PCR múltiple en pacientes con sospecha de infecciones del SNC como pueden ser meningitis o encefalitis del Hospital de Clínicas de julio 2019 a enero 2021. Se realizó un estudio observacional descriptivo de corte transversal, a partir de los resultados emitidos por el panel meningitis/encefalitis (ME) de FilmArray (BIOFIRE) que utiliza un análisis de PCR multiplex de alto orden e incluye 14 microorganismos que causan con mayor frecuencia. De los 231 resultados analizados se encontró una positividad de 7,79% de los cuales 77,8% son de etiología viral y 22,2% de etiología micótica. 5 casos Citomegalovirus y de ellos 1 con una coinfección de Virus de Varicela Zoster, 4 casos Herpes humano-6, 2 casos de Herpesvirus simplex tipo 2, 2 casos de Enterovirus y 1 caso de Herpesvirus simplex tipo 1. Además de 4 casos de detección *Cryptococcus neoformans/gatti*. El uso de este método ha contribuido a mejorar el diagnóstico más sensible y rápido en el caso de meningitis y encefalitis virales, y también en la detección de hongos.

Epidemiología molecular y distribución de cepas del complejo *A.calcoaceticus*-*A.baumannii* en el Hospital Infantil de México Federico Gómez

Jetsi Mancilla^{1,2}, Sara Ochoa¹, Juan Xicohtencatl¹, Ariadna Cruz-Córdova¹

(1) Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, Laboratorio de Investigación en Bacteriología Intestinal, Calle Doctor Márquez 162 Delegación; Doctores, Cuauhtémoc, 06720 Ciudad de México, CDMX, Mexico city, Mexico
(2) Universidad Nacional Autónoma de México, Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina, Cto. de los Posgrados S/N, C.U., Coyoacán, 04510 Ciudad de México, CDMX, Mexico city, Mexico

Acinetobacter baumannii es un patógeno oportunista implicado en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud, es aislado frecuentemente en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), causando neumonía asociada a ventilador, meningitis, infecciones en torrente sanguíneo e infecciones de vías urinarias. El objetivo de este estudio fue tipificar molecularmente cepas del complejo *A.calcoaceticus*-*A.baumannii* (Acb) aisladas de pacientes del HIMFG (Hospital Infantil de México Federico Gómez) por medio de perfil plasmídico, electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE), tipificación por secuencia multilocus (MLST) y sistema CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats); así como determinar su susceptibilidad a antibióticos, amplificación de genes *blaOXA* (*blaOXA*-51, *blaOXA*-23, *blaOXA*-24, *blaOXA*-58) y su distribución en el HIMFG. Se incluyeron un total de 88 cepas aisladas en el período de enero de 2015 a septiembre de 2017, identificadas por MALDI-TOF-MS-Biotyper como *A. baumannii* (n=79/88), *A. pittii* (n=6/88) y *A. nosocomialis* (n=3/88). Las cepas fueron recuperadas principalmente de pacientes de la UCI y sala de urgencia, asociándose a bacteriemias primarias (n=12/88), bacteriemias secundarias (n=3/88) y a neumonía (n=2/88). La presencia de genes *blaOXA* se detectó por PCR, todas las cepas amplificaron el gen *blaOXA*-51, 51.13% (n=45/88) el gen *blaOXA*-23, 4.54% (n=4/88) el gen *blaOXA*-24 y el 2.27% (n=2/88) el gen *blaOXA*-58. Pruebas de susceptibilidad a antibióticos se realizaron utilizando el sistema Vitek® y la susceptibilidad a colistina se determinó por el método de microdilución en caldo, según la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); encontrando que el 44.32% (n=39/88) de los aislados mostraron un perfil multidrogo resistente y el 11.36% (n=10/88) fueron extremo drogo resistentes. Los perfiles de plásmidos obtenidos por medio de la técnica de Eckardt, mostraron que las cepas presentan de uno hasta seis plásmidos. Los patrones de macrorestricción fueron obtenidos con la enzima de restricción Apal, los aislados presentaron entre 16 y 23 fragmentos, distribuyéndose en 52 pulsotipos; 24 aislados mostraron patrones de macrorestricción idénticos, con un coeficiente de correlación de 0.99; además, estos aislados corresponden a pacientes, salas y años distintos, mismo que sugiere la persistencia de más de una clona. Se determinaron 27 Secuencias Tipo (ST) por medio de MLST, utilizando el esquema Pasteur y el método de secuenciación masiva; la ST más prevalente fue la ST156 (n=24/88), seguida de las ST132 y la ST1166. La amplificación de matrices asociadas al sistema CRISPR-Cas tipo IF-b mediante PCR, se identificó en el 22.73% (n=20/88) de los aislados. Los resultados mostraron un aumento en el número de cepas resistentes a carbapenémicos; a pesar de la diversidad en las cepas, se observó que diferentes pacientes podrían estar infectados por la misma cepa. Los datos obtenidos por MLST indican que la ST 156 es una clona persistente en el HIMFG. La implementación de diferentes técnicas de tipificación molecular es fundamental para generar información sobre la epidemiología de las especies que pertenecen al complejo Acb y generar conocimiento referente a su distribución y comportamiento en entornos hospitalarios.

Ações de prevenção e controle da esporotricose

Mariana Cavalcante Fonseca¹, Lívia Queiroz¹, Wellington Lima², Suely Ruth⁴, Francisco Bernardino³, Walicyranison Plínio¹, Felipe Guerra¹

(1) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciência Farmacêuticas, João Pessoa, Brasil

(2) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Fisiologia e Patologia, João Pessoa, Brasil

(3) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Doenças Infectocontagiosas, João Pessoa, Brasil

(4) Secretaria de Saúde, Vigilância Ambiental e Zoonoses, João Pessoa, Brasil

A esporotricose é uma doença fúngica infecciosa, de caráter crônico, causada pelos fungos pertencentes ao complexo *Sporothrix schenckii*. A doença possui uma distribuição mundial sendo mais encontrada em regiões de clima tropical. Sendo micose subcutânea é a de maior incidência no Brasil. Os humanos geralmente adquirem a infecção por meio da inoculação traumática do fungo durante atividades ao ar livre, como agricultura ou por contato com animais infectados, principalmente os gatos em ambiente urbano. Na Paraíba, observou-se um aumento dos casos de esporotricose a partir do ano de 2016 em usuários assistidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) – Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH) em João Pessoa-PB. Dessa maneira, levando em consideração à necessidade de levar novos conceitos a comunidade acadêmica e para além dela, foi criado o projeto de extensão “Ações de prevenção e controle da esporotricose na cidade de João Pessoa – PB” que atualmente se encontra em seu segundo ano de atuação e tem por objetivo promover ações de prevenção e controle da esporotricose, sendo, em virtude da pandemia, desenvolvido de forma remota. Foram realizadas semanalmente reuniões científicas remotas com estímulo ao debate e apresentação de seminários para aumentar o repertório científico dos extensionistas, também foram feitos posts semanais nas redes sociais do projeto (instagram, facebook, twitter) —que contam com cerca de 360 seguidores, aproximadamente 30 curtidas em cada publicação e um alcance de em média 300 contas— nos quais são abordados vários conceitos e curiosidades acerca da esporotricose, assim como, demais assuntos relevantes, sendo tiradas eventuais dúvidas que surgem por parte dos internautas que acompanham as redes sociais. Assim, as ações desse projeto de extensão contribuíram de forma expressiva na formação acadêmica de seus colaboradores, bem como no fortalecimento da relação entre Universidade e comunidade, fazendo com que os alunos continuem levando informação e conhecimento para além dos muros da Universidade mesmo no atual cenário de pandemia.

Evaluation of IgM Dot Blot with thermo-resistant antigen for serodiagnosis of human Leptospirosis

Roberta Morozetti Blanco^{1,2}, Elaine dos Santos Lima¹, Eliete Caló Romero^{1,2}

(1) Instituto Adolfo Lutz, Centro de Bacteriologia, São Paulo, Brasil

(2) Faculdade de Medicina, Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

Leptospirosis is a life-threatening disease caused by spirochetes of the genus *Leptospira* spp. The diagnosis of the disease is based on laboratory tests, mainly on serological assays since clinical presentation of leptospirosis in humans is variable and may be mistaken for other diseases such as dengue, yellow fever, influenza and COVID-19. Therefore, the development of simple, rapid and inexpensive diagnostic tools is needed. The aim of this study was to evaluate an IgM Dot Blot test with thermo-resistant antigen for serodiagnosis of human Leptospirosis. Methods: Paired serum samples from 148 patients diagnosed with leptospirosis were analyzed by IgM Dot Blot using thermo-resistant antigen from *Leptospira biflexa* serovar Patoc and anti-human IgM antibody conjugated with alkaline phosphatase. The results were compared with those obtained with microscopic agglutination test (MAT), the gold standard reference serological method. Cases of leptospirosis were considered confirmed by MAT when demonstrated seroconversion in paired serum samples from the acute and convalescent period. Serum samples from 60 healthy blood bank donors and from 88 individuals with positive test results for diseases other than leptospirosis were used as negative controls to establish the specificity of the assay. The IgM Dot Blot was inspected visually by two independent observers who were blind to all information. Results: With serum samples from patients with acute and convalescent leptospirosis, sensitivity of IgM Dot-blot test was 57.8% (95% CI 49.4 – 65.9%) and 93.9% (95% CI 88.7 – 97.1%), respectively. The specificity was 95.2% (95% CI 90.5 – 98.1%) with serum samples from negative control. The agreement of visual results between two independent observers was considered almost perfect with a kappa value of 1.00.

Conclusions: This IgM Dot Blot with thermo-resistant antigen and alkaline phosphatase conjugate could be a good alternative method for the diagnosis of leptospirosis. It could be used as an initial screening for the detection of leptospirosis, with subsequent confirmation by MAT.

Temperatures outside the optimal range for *Helicobacter pylori* increases its harboring within *Candida* yeast cells

Kimberly Sánchez-Aonzo¹, Luciano Arellano-Arriagada¹, Humberto Bernasconi², Cristian Parra-Sepúlveda¹, Víctor Campos¹, Carlos Smith¹, Apolinaria García¹

(1) Universidad de Concepcion, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile

(2) Laboratorio Pasteur, Investigación y desarrollo, Concepción, Chile

Introduction: *Helicobacter pylori* is a facultative intracellular bacterium capable to enter into yeast cells but the factors driving the endosymbiosis between these two microorganisms remain largely unknown. This work aimed to determine if temperatures outside the optimal range for *H. pylori* increase the harboring of this pathogen within *Candida* yeast cells. **Materials and Methods:** *H. pylori* strains were co-cultured with *Candida* strains in Brucella broth supplemented with 5 % fetal bovine serum and incubated at 4, 25, 37 or 40 °C. After co-culturing these microorganisms, yeast cells containing bacteria like bodies (Y-BLBs) were observed within yeast cells by optical microscopy and BLBs identified as *H. pylori* by FISH. The *H. pylori* 16S rRNA gene was amplified from total DNA of Y-BLBs. The viability of intra-yeast *H. pylori* cells was confirmed using the LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability kit. **Results:** All four *H. pylori* strains assayed were capable to enter into all four *Candida* strains assayed. The higher percentages of Y-BLBs were obtained when *H. pylori* J99 was co-cultured at 40 °C with any of the *Candida* strains. *H. pylori* also increased its harboring within yeast cells in co-cultures incubated at 25 °C when compared to those incubated at 37 °C. **Conclusion:** Although *H. pylori* grew significantly at 40 °C, this temperature and also incubation at 25 °C increased its harboring within yeasts of the *Candida* genus. Under the incubation conditions assayed, the endosymbiotic relationship between both microorganisms is strain dependent and permits bacterial cells to remain viable under stressing environmental conditions

Financing: This work was supported by Grant VRID-Enlace 218.036.047-1.0, University of Concepcion, Concepcion, Chile.

Micosis invasivas detectadas por PCR en pacientes internados por Covid-19. Paraguay periodo 2020-2021.

Carmen Portillo¹, Víctor Cabanellas², Pasionaria Ramos¹, Lisa Barreto³, Miguel A. Irrazabal⁴

(1) Laboratorio Portillo, Azara 2159, Asunción, Paraguay

(2) Hospital Regional Caacupe, Caacupe, Caacupe, Paraguay

(3) Sanatorio Migone Battilana, Eligio Ayala 1293, Asunción, Paraguay

(4) Consultorio Medico, Genaro Romero 514, Asunción, Paraguay

Micosis invasivas detectadas por PCR en pacientes internados por Covid-19. Paraguay periodo 2020-2021. Autores: Portillo Carmen*1, Víctor Cabanellas2, Ramos Pasionaria, 3 Lisa Barreto 4 e Irrazabal Miguel A5.1,3Laboratorio Portillo, Hospital Regional de Caacupé2, Sanatorio Migone,4 Consultorio Médico5. Asunción-Paraguay IntroducciónLas infecciones fúngicas invasivas secundarias en pacientes críticos internados por Covid-19 se han reportado desde setiembre 2020, principalmente la Aspergilosis pulmonar invasiva(CAPA) con una incidencia mundial de 19 a 33 % y una mortalidad de 59,1%. Entre los factores de riesgo, se mencionan la estancia prolongada en unidades de cuidados intensivos con entubación orotraqueal, las dosis altas de corticoides ante la intensa reacción inflamatoria. El diagnóstico se basa en el aislamiento micológico, la utilización de biomarcadores como el antígeno de Galactomanano, la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), en muestras del tracto respiratorio inferior o sangre, según el consenso ECMM/ISHAM 2020 para considerar caso confirmado o probable. El objetivo del estudio fue identificar las infecciones fúngicas invasivas por PCR en pacientes con más de 4 días de internación ante el deterioro radiológico y la mala evolución clínica. Materiales y MétodoDe agosto del 2020 a junio del 2021 se analizaron muestras de sangre entera pacientes internados por cuadros moderados o severos de Covid-19 en diferentes servicios privados y públicos del país, con sospecha de infección fúngica invasiva secundaria, ante la dificultad de obtener las muestras respiratorias bajas. Para la PCR en tiempo real se utilizó el Protocolo de Pan fúngica dirigida al gene 18S del ARN ribosomal, altamente conservada debido a su naturaleza universal con posterior PCR anidada, que amplifica regiones internas para identificar las levaduras del género *Cándida* y hongos filamentosos como el *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. Para la extracción del ADN se utilizó el kit Thermo Scientific®, los primers de Invitrogen®, la detección en el equipo Rotorgene® y la sensibilidad fue de 4 UFC por ml de sangre. ResultadosSe ingresaron 194 muestras, en el año 2020 solamente 14 muestras con la sospecha clínica y 180 en el 2021 conforme al avance de la epidemia en el país. Internados en cuidados intensivos e intubados fueron 109 (45%), 82 de sala de contingencia (56%) con un promedio de 3 a 48 días de internación, en su mayoría hombres 114 (58.7%) y 77 mujeres (34.6%). El rango de edad fue de 21 a 91 años, pacientes menores de 30 años fueron 10(5,1%), 63(32.5%) de 31 a 60 años y 115(59%) mayores de 61 años, con una media de 61 años. Se detectaron el ADN de *Cándida* spp. en 7 muestras (3.6%), *Aspergillus* spp. en 39(20.5%) y *Fusarium* spp. 20(10.3%). En los que se detectaron el *Aspergillus* spp: 21 fueron mayores de 61 años (53.8%), 26 del sexo masculino (66.6%), 31 en terapia con intubación orotraqueal (79.5 %). ConclusiónEl 20.5% de las infecciones fúngicas invasivas detectadas por la PCR correspondieron a cuadros probables de Aspergilosis pulmonar asociada al Covid-19(CAPA), acorde al consenso ECMM/ISHAM 2020, utilizando una o dos pruebas diagnósticas. Esto fue similar a otras casuísticas, en pacientes del sexo masculino, mayores de 61 años, en unidades de cuidados intensivos y fueron tratados con voriconazol.

Relación de niveles de Progranulina en pacientes dispépticos según el estado del tejido gástrico y la virulencia de *Helicobacter pylori*

claudia esperanza troncoso Muñoz^{1,2}, Mónica Pavez³, Leticia Barrientos³

(1) Universidad de La Frontera, Programa de Doctorado en Ciencias, Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Temuco, Chile

(2) Universidad Autónoma de Chile, Facultad de Ciencias de la Salud, Temuco, Chile

(3) Universidad de la Frontera, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Temuco, Chile

La progranulina es una proteína antiinflamatoria cuya expresión elevada está asociada a mal pronóstico en diversos procesos neoplásicos como cáncer hepatocelular, ovarios, vejiga y glioblastoma, sin embargo, ha sido poco estudiada en cáncer gástrico. Es sabido que *Helicobacter pylori* está estrechamente asociado con el desarrollo de alteraciones gástricas, incluido cáncer gástrico y Linfoma de MALT. El cáncer gástrico es prevalente a nivel mundial, su distribución geográfica es variable y en Chile tiene una alta mortalidad favorecida por lo tardío del diagnóstico. En la Región de La Araucanía se reportan elevados índices de cáncer gástrico, alcanzando el cuarto lugar de prevalencia a nivel nacional. Con el objetivo de encontrar en la progranulina una herramienta que permita detectar precozmente la progresión de la enfermedad gástrica, se propuso relacionar los niveles de progranulina con el estado del tejido gástrico y la virulencia de las cepas colonizantes de pacientes dispépticos colonizados por *H. pylori*, pertenecientes a la Región de La Araucanía, quienes firmaron consentimiento informado previa aprobación por el comité de ética y reportaron antecedentes sociodemográficos por medio de una encuesta. A partir del tejido gástrico de 75 pacientes dispépticos, se realizó cultivo en medio Columbia Sangre 7%, suplementado con antibióticos (DENT 2% OXOIDTM) incubado a 37 °C, bajo ambiente microaerófilo, seguido de confirmación bacteriana según Gram, prueba de catalasa y oxidasa, y validación genética por el gen *ureC*, incluidos la detección de los genes de virulencia *vacA*, *cagA* e *IceA*, por PCR convencional, los que fueron comparados con los niveles de progranulina detectados desde las biopsias por PCR en tiempo real. El estado del tejido gástrico se registró según el informe de la observación endoscópica. El 38,7% (n = 29) de los infectados presentó algún tipo de lesión, de éstos, en 48,3% se apreciaron lesiones erosivas (n = 14), 37,9% no erosivas (n = 11), atróficas 10,3% (n = 3) y avanzadas 3,4% (n = 1), específicamente metaplasia. En los tejidos con lesiones más avanzadas se observaron los menores niveles de expresión de progranulina (atrofia = $0,655 \pm 0,215$, n = 3 y metaplasia = $0,895$, n = 1), (p < 0,005), coincidente con la presencia de cepas *H. pylori* que reúnen perfiles más virulentos, específicamente, *VacAs1/m1+CagA+IceA2+* y *VacAs1/m1+CagA+IceA1+*, éste último detectado en la cepa colonizante del tejido metaplásico. Aun cuando en este estudio preliminar el número de individuos para estos grupos es baja, se observa que la progranulina se reduce drásticamente en el tejido con lesiones atróficas y metaplasia, no así en los otros estados epiteliales y coincide con la colonización de cepas *H. pylori* que reúnen perfiles de mayor virulencia, sugiriendo un comportamiento diferencial para la progranulina según el avance de la lesión y la virulencia de las cepas. A pesar de estas características, es necesario aumentar el n de estudio y profundizar en los mecanismos que inducen el comportamiento de progranulina y la lesión gástrica, para asociarla a un posible indicador diagnóstico en la infección por *H. pylori*.

Financing: Trabajo financiado parcialmente por proyecto DI20-2018 de la Dirección de Investigación, UFRO; NEXER (NXR17-0003), Beca Doctoral CONICYT– PFCHA / Doctorado Nacional Folio 21171513 y Fondos del proyecto FONIS SA1610197.

Detección del gen *wlaN* involucrado en la biosíntesis del lipooligosacáridos (LOS) en cepas de *Campylobacter* spp., aislados de muestras de heces de pacientes con síndrome diarreico agudo. Paraguay. 2019-2021.

Natalie Weiler¹, **Maria Veronica Orrego Miranda**¹, **Flavia Helena Ortiz Arce**¹, Mercedes Alvarez¹

(1) Laboratorio CXentral d Salud Publica, Departamento de Bacteriología y Micología, Asuncion, Asuncion, Paraguay

Introducción. La infección por *Campylobacter* spp., es una de las principales causas de diarrea aguda a nivel mundial (1). La misma se encuentra asociada al consumo de carne de pollo mal cocida, leche no pasteurizada y agua contaminada (2). Además de causar un síndrome diarreico, una infección por *Campylobacter* spp., a sido descrita como un antecedente frecuente para el desarrollo de Síndrome de Guillain-Barre (GBS), una forma de neuropatía que es una de las causas más comunes de parálisis flácida (2,3). El mimetismo de los gangliosidos por los lipooligosacáridos (LOS) de *Campylobacter* spp., es considerado como un factor crítico para el desencadenamiento de dicha neuropatía luego de la infección por este patógeno (3). Se acredita lo anterior, a los anticuerpos generados contra los LOS de *Campylobacter* spp., reaccionan de forma cruzada con los gangliosidos encontrados en el sistema nervioso llevando desarrollar GBS (3,4). El gen *wlaN* es el principal involucrado en la biosíntesis de LOS, que codifica β -galactosiltransferasas putativas detectados en la mayoría de las cepas invasivas de *Campylobacter* spp. (4). Por lo cual, la identificación, de este gen, es de suma importancia para la comprensión de la patogenicidad de este patógeno. El objetivo de este trabajo fue detectar el gen *wlaN* involucrado en la biosíntesis del lipooligosacáridos (LOS) en cepas de *Campylobacter* spp., aislados de muestras de heces de pacientes con síndrome diarreico agudo. Paraguay. 2019-2021. **Materiales y Métodos.** Estudio descriptivo de corte transversal, retrospectivo, cumpliendo las cuestiones éticas de estudios poblacionales. Como instrumento de medición ficha epidemiológica enviada de las diferentes instituciones de salud. Se estudiaron 74 cepas de *Campylobacter* spp., aisladas de muestras diarreicas agudas, elegidas por un muestreo de conveniencia, entre los años 2019-2021, teniendo como limitante la viabilidad de las cepas. Se procedió a realizar la extracción de ADN y detección del gen *wlaN*, por técnica molecular Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional, según protocolo Linton et al. (2000). **Resultados y Conclusiones.** De las 121 cepas de *Campylobacter* spp., estudiadas, 115 (95%) correspondieron a la especie *Campylobacter jejuni* y 6 (5%) a la especie *Campylobacter coli*. En 21 (17%) cepas se detectó, el gen *wlaN*, y todas correspondieron a la especie *Campylobacter jejuni*. Las cepas de *Campylobacter coli* no presentaron detección del gen *wlaN*. En Paraguay, el 95% de los aislamientos de *Campylobacter* spp., pertenecen a la especie *Campylobacter jejuni*, de ahí, se hace importante, considerar la presencia de este gen como un antecedente para la presentación de Síndrome de Guillain-Barre.

Financing: Apoyo de FOCEM

Caracterización genómica de *Neisseria meningitidis* en Chile y su relación evolutiva en el contexto de Latinoamérica.

Matias García Mendoza¹, Michel Abanto², Leticia Barrientos Diaz Diaz¹

(1) Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Facultad de medicina, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile

(2) Universidad de la Frontera, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Neisseria meningitidis es una bacteria que causa meningitis y es considerada endémica en Chile, estando presente en numerosos casos clínicos por décadas. Actualmente es la principal causa de meningitis bacteriana. La meningitis bacteriana es una enfermedad grave de distribución mundial que afecta individuos de todas las edades y especialmente a los niños. A pesar de que la incidencia de esta enfermedad ha ido disminuyendo, su mortalidad para los infectados ha ido incrementando. Esta enfermedad representa un serio problema de salud pública en Chile y dada su relevancia, se propuso como objetivo del presente proyecto hacer un seguimiento epidemiológico por medio de las bases de datos disponibles, seguido de un análisis de genómica comparativa. Con este objetivo se buscaron marcadores evolutivos dentro de las cepas del complejo clonal ST-11 circulantes en Chile y basándonos en los factores de virulencia de *N. meningitidis*. En base a su contenido genético se pudo comprobar que cada complejo clonal se rige por un genoma accesorio específico; además, se pudo evidenciar que existen ciertos genes encontrados como accesorios bajo ciertos parámetros, pero que en realidad forman parte de la misma familia de genes, pero con mayores diferencias nucleotídicas relacionadas al complejo clonal. Dentro de Latinoamérica las cepas de *N. meningitidis* se mantienen cercanas según su complejo clonal, en el linaje de ST-11, específicamente, este tiene un genoma accesorio específico y presenta una tasa de recombinación baja comparada a la encontrada con otros complejos clonales. El complejo clonal ST-11 se encuentra estrechamente relacionado con cepas de Argentina a comparación de otros países de Latinoamérica y este mismo complejo clonal se encuentra más influenciado por eventos de recombinación que de mutación. Además, se encontraron 16 de 89 genes que comparten las mismas relaciones evolutivas sugiriendo una evolución adaptativa.

Financing: Agradecimientos: DI21–2017 de la Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera; y Proyecto NXR17-0003, Network for Extreme Environments Research.

Manifestaciones extrapulmonares debido a infección por *M. pneumoniae* en pacientes de un hospital pediátrico de tercer nivel de la Ciudad de México

Jocelin Merida Vieyra¹, Astrid Hernández Soto², Karla Ximena León Lara², Agustín De Colosa Ranero², Alejandra Aquino Andrade¹

(1) Instituto Nacional de Pediatría, Laboratorio de Bacteriología Experimental, Insurgentes Sur 3700C, Insurgentes Cuicuilco, Coyoacán, Ciudad de México, México

(2) Instituto Nacional de Pediatría, Departamento de Infectología Pediátrica, Insurgentes Sur 3700C, Insurgentes Cuicuilco, Coyoacán, Ciudad de México, México

Introducción. *M. pneumoniae* es reconocido como agente etiológico de neumonía adquirida en la comunidad. Sin embargo, hasta el 25% de los pacientes con infección respiratoria presentan manifestaciones extrapulmonares que pueden involucrar cualquier órgano. El objetivo de este trabajo fue detectar a *M. pneumoniae* en pacientes pediátricos con padecimientos extrapulmonares. **Material y métodos.** Durante un periodo de dos años (abril 2018-marzo 2020), se incluyeron 76 pacientes pediátricos con manifestaciones extrapulmonares (neurológicas, inmunológicas, hematológicas, dermatológicas y sistema cardiovascular), hospitalizados en el INP. A cada paciente se le tomó un hisopado nasofaríngeo y una muestra de sangre. En pacientes con cuadro neurológico, se colectó muestra de LCR. Se obtuvo una segunda muestra de sangre de dos a cuatro semanas después de la primera toma. La detección de *M. pneumoniae* se realizó a través de qPCR dirigida a los genes *p1* y *CARDS*. Se hizo la detección de IgM e IgG anti P1 mediante ELISA. Se colectaron datos clínicos de cada paciente. **Resultados.** *M. pneumoniae* fue positivo en 17 pacientes. El gen *CARDS* se detectó en cuatro hisopados nasofaríngeos y dos LCR. IgM fue positiva en 12 pacientes, IgG en nueve y en uno se observó seroconversión (IgG negativa, IgG pareada positiva). El 59% fueron del sexo femenino y el 41% eran de edad escolar (6-11 años). Siete pacientes presentaron síntomas respiratorios previo al inicio de las manifestaciones extrapulmonares. Un paciente tenía comorbilidad neurológica (epilepsia). Con respecto a las manifestaciones extrapulmonares, 14 pacientes presentaron cuadro neurológico (síndrome de Guillain-Barré y encefalitis aguda, cinco cada uno; dos, neuropatía craneal/periférica; uno con meningitis y uno con síndrome de Miller-Fisher), dos con hematológico (uno con síndrome hemofagocítico y otro con púrpura de Henoch-Schönlein) y dos pacientes con enfermedad de Kawasaki (inmunológico). Un paciente tuvo dos tipos de cuadro extrapulmonar (hematológico e inmunológico). El 23.5% tuvieron complicaciones. Todos los pacientes resolvieron el cuadro clínico. **Conclusiones.** Este es el primer reporte en México sobre la participación de *M. pneumoniae* en manifestaciones extrapulmonares de pacientes pediátricos. La frecuencia fue del 22.4% y se detectó principalmente en pacientes con cuadros neurológicos.

Financing: Fondo de Investigación del Instituto Científico Pfizer 2014 Fondos de Presupuesto Federal para Investigación del INP

Micetoma por Nocardia - a propósito de un caso clínico

Stefan Goertzen¹, Gustavo Aguilar²

(1) Laboratorio Hospital Loma Plata, Boquerón, Loma Plata, Paraguay

(2) Laboratorio Central de Salud Publica, Asunción, Asunción, Paraguay

Introducción El género *Nocardia* es un patógeno oportunista que afecta en particular a los pulmones en forma aguda o crónica, y con menor frecuencia sistema nerviosos central (SNC), piel y otros órganos y sistemas. El medio más común de las especies de *Nocardia* es el suelo, de donde se han aislado en numerosas ocasiones. Puede aislarse también como parte de la microbiota habitual de vías respiratorias, tráquea, bronquios y piel. La Nocardiosis afecta preferentemente miembros superiores e inferiores de personas con actividades relacionadas al contacto de suelos, vegetales y sus detritos, con mayor prevalencia en países latinoamericanos y otras zonas tropicales y subtropicales del mundo. El objetivo del presente trabajo es describir un caso clínico de nocardiosis cutánea detectado en el Hospital Loma Plata en Junio 2020. **Presentación del caso** Se trata de un hombre de origen nativo de 68 años de edad derivado desde el Hospital Yalve Sanga de la comunidad indígena de Yalve Sanga al Hospital Loma Plata para la evaluación del pie derecho. En el historial no se encuentran indicaciones de inmunocompromiso. El paciente refiere andar descalzo la mayor parte del tiempo. Al examen físico se constatan lesiones ulcerosas de larga evolución y edema en el pie con referencia de dolor a la noche y al caminar. Se decide realizar biopsia, radiografía y tomografía computarizada (TAC) para lo cual el paciente es internado. La radiografía no arroja anormalidades y la TAC muestra cambios óseos y articulares relacionadas a la edad, se detecta leve derrame articular asociado a engrosamiento. Del material de la biopsia se deriva una parte para anatomía patológica y de la otra parte se realiza coloraciones y cultivo para gérmenes comunes y hongos. En la coloración Gram se observan bacilos Gram positivos ramificados, los cuales se muestran como bacilos ácido-alcohol resistentes con la coloración de Ziehl Neelsen modificado. En el cultivo en agar sangre oveja después de 7 días crecen colonias rugosas las cuales son luego confirmadas por la metodología Maldi-Toff como *Nocardia farcinica*. El cultivo para hongos fue negativo a los 25 días. Se decide el alta del paciente con tratamiento con Trimetoprim/Sulfa. No se logra confirmar el éxito del tratamiento debido a dificultades en el seguimiento del caso. **Conclusión** El micetoma por *Nocardia* es una infección poco frecuente y debe diferenciarse de otras afecciones causadas por hongos y/o micobacterias. El examen microscópico con coloraciones como la de Gram y Ziehl Neelsen modificado orientan en el diagnóstico y el tratamiento de manera precoz. En una serie de casos e Nocardiosis en Paraguay, *Nocardia farcinica* fue reportada como agente causal de infección cutánea secundaria o diseminada. Sin embargo la literatura revela un amplio espectro de presentaciones clínicas, entre ellas los micetomas.

Identificación rápida de bacterias causantes de infección del torrente sanguíneo mediante la plataforma Filmarray en el periodo octubre 2019 - mayo 2021 en un laboratorio privado de Lima, Perú

Luis Alvarado¹, Maritza Quiroz¹, Giancarlo Quiroz¹, William Castillo¹, Ronald Neyra¹, Flor Quedo¹, Luis Ramos¹
(1) Laboratorios Roe - Clínica San Felipe, Microbiología, Lima, Perú

Introducción La infección del torrente sanguíneo es una condición clínica de gravedad que puede incrementar la estancia hospitalaria, los costos de la atención y la mortalidad general, el diagnóstico oportuno permitiría al clínico establecer el tratamiento dirigido al germen involucrado. Los métodos de rutina de los Laboratorios de Microbiología tardan entre 36 a 48 horas en obtener la identificación bacteriana a partir de un frasco hemocultivo positivo. El desarrollo de métodos moleculares como FilmArray ha reducido el tiempo de identificación y la detección de algunos mecanismos de resistencia a sólo una hora desde la obtención de un frasco hemocultivo positivo, el costo y la disponibilidad son una barrera de acceso a estas tecnologías. **Objetivos** Describir los resultados obtenidos en la identificación de los agentes microbianos utilizando la plataforma molecular Filmarray en frascos hemocultivos positivos durante el periodo de estudio. **Metodología** Muestra: 460 investigaciones de infecciones del torrente sanguíneo referidos de hospitales, clínicas y atenciones particulares de la ciudad de Lima. Los frascos y sistemas hemocultivos utilizados fueron Bactec y BactAlert. Ingresamos al análisis el primer frasco hemocultivo con alerta de positividad para cada investigación de bacteriemia que muestre a la coloración Gram la presencia de bacilos Gram negativos, bacilos Gram positivos, cocos Gram positivos en cadenas o levaduras. La identificación microbiana se realiza con la plataforma FilmArray panel BCID que tiene blancos moleculares para 24 patógenos y 3 genes de resistencia. **Resultados:** Se realiza 460 determinaciones por FilmArray a partir de frascos hemocultivos positivos que cumplen criterios establecidos para la coloración Gram, se obtiene 383 (83.3%) resultados con algún patógeno detectado y 77 (16.7%) sin detección molecular de patógenos. De los 383 resultados positivos, se obtuvieron 282 (73.6%) resultado monomicrobiano y 82 (21.4%), 13 (3.4%), 5 (1.3%), 1 (0.3%) con 2, 3, 4 y 5 patógenos respectivamente. Del total de patógenos recuperados *Enterococcus* sp. 65, *Staphylococcus coagulans* negativo 44, *S.aureus* 4, *Streptococcus* sp., 19, *S.agalactiae* 1, *S.pneumoniae* 1, *A.baumannii* 56, *P.aeruginosa* 41, *E.coli* 78, *K.pneumoniae* 70, *K.oxytoca* 13, Complejo *Enterobacter cloacae* 30, *Proteus* sp., 4, *Serratia marcescens* 6, *Enterobacter* diferente 19, *H.influenzae* 1, *C.albicans* 23, *C.glabrata* 2, *C.parapsilosis* 26, *C.tropicalis* 4. Los patógenos recuperados en resultado monomicrobiano fueron *Enterococcus* sp. 24 (8.5%), *Staphylococcus coagulans* negativo 6 (2.1%), *S.aureus* 1 (0.3%), *Streptococcus* sp., 16 (5.7%), *S.agalactiae* 1 (0.01%); *S.pneumoniae* 1 (0.3%), *Acinetobacter baumannii* 28 (9.9%), *P.aeruginosa* 22 (7.8%), *E.coli* 65 (23.0%), *K.pneumoniae* 35 (12.4%), *K.oxytoca* 11 (3.9%), Complejo *Enterobacter cloacae* 18 (6.4%), *Proteus* sp. 3 (1.0%), *Serratia marcescens* 4 (1.4%), *Enterobacter* diferente 17 (6.0%), *H.influenzae* 1 (0.3%), *C.albicans* 13 (4.6%), *C.parapsilosis* 15 (5.3%), *C.tropicalis* 1 (0.3%). **Conclusiones:** La plataforma FilmArray identificó algún patógeno en el 83.3% de los casos. Los 5 principales agentes involucrados en bacteriemias fueron *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Enterococcus*, *A.baumannii* y *P.aeruginosa*. Se detectó bacteriemia polimicrobiana en 26.4% de los casos. Una limitación en la detección de *S.aureus* fue la exclusión de los frascos hemocultivos donde se observó cocos Gram positivos en racimos como único morfotipo en la coloración Gram.

Financing: El resumen se hizo sin financiamiento externo. Datos de Laboratorio.

Conocimientos y percepción sobre las vacunas en apoderados de estudiantes de 4° y 5° año básico de la región de Coquimbo, Chile 2021

José Luis Ibáñez Arredondo¹, Fernando Andrés Galleguillos González¹, Patricio Alejandro Torres Rojas¹, Vanessa Micaela Flores Cenzano¹, Dagianna González Cabello¹, Nicole Urriola Urriola¹

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

La vacunación corresponde al proceso de inducir artificialmente la inmunidad o proporcionar protección frente a determinados agentes infecciosos, siendo uno de los logros más importantes en la historia de la salud pública, permitiendo disminuir tanto la morbilidad como la mortalidad a nivel global. Chile cuenta desde 1978 con un Programa Nacional de Inmunizaciones, este ha permitido que a través de la calidad, seguridad y eficiencia de las vacunas, acorde al desarrollo biotecnológico y la evidencia científica, se puedan disminuir y controlar las tasas de enfermedades inmunoprevenibles. Una de las vacunas implementada para niñas el año 2014 y niños el año 2019, es la vacuna contra el Virus Papiloma Humano (VPH), siendo inoculada en cuarto año básico (primera dosis) y quinto año básico (segunda dosis), es decir, a estudiantes entre 9 y 11 años. Este agente es reconocido como el causante más frecuente de cáncer de cuello uterino y como un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de pene, ano, verrugas genitales y otros. El objetivo de este trabajo es determinar el nivel de conocimiento de padres y apoderados sobre esta vacuna. Se realizó un estudio observacional, descriptivo, cuantitativo y transversal. Entre los años 2020 - 2021 se aplicó un cuestionario online en padres y apoderados de tres 3 establecimientos educacionales de la región de Coquimbo, Chile. Los datos fueron analizados con el programa SPSS 17.0. El cuestionario fue contestado por 191 personas, el 88,5% fueron mujeres y el 11,5% hombres. El 80,63 % corresponde a la madre o apoderada del o la estudiante, siendo la mayoría del rango etario de 28-38 años. El 84,29% posee escolaridad completa. El 63,9% respondió correctamente sobre qué es una vacuna y un 70,7% sabe para qué se utilizan. Sólo un 50,3% afirma que las vacunas son seguras y no hacen daño. En cuanto a conocimiento sobre el Virus Papiloma Humano y su vacuna, el 92,1% refiere haber escuchado alguna vez sobre el Virus Papiloma Humano, siendo la televisión el principal medio (71,2%) y sólo un 58,1% tiene conocimiento sobre la cantidad de dosis que se deben administrar. El 84,6% está de acuerdo con vacunar a sus pupilos contra VPH. Se puede concluir que a pesar de que la población encuestada posee conocimientos sobre la vacunación en general y contra el VPH, en algunos casos estos no son correctos, pudiendo afectar la toma de decisiones entorno a la vacunación. Al introducir una nueva vacuna en grupos etarios específicos, su promoción debe orientarse a informar al público para fomentar su confianza, mostrar el impacto que genera y aquellos beneficios que se esperan lograr con la vacuna. Se debe generar especial énfasis en los medios de difusión pública, y enfocar la educación en colegios, apoderados y niños/as del grupo objetivo, ya que en este caso, son los principales involucrados.

Financing: Este estudio no cuenta con financiamiento económico externo

VIGILANCIA DE CEPAS DE STREPTOCOCCUS PYOGENES EN EL LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PUBLICA DURANTE EL PERIODO DE 2018-2021

Liliana Rojas¹, Anibal Kawabata¹, Minako Nagai Oji¹, Maria Eugenia Leon¹

(1) Laboratorio Central de Salud Publica, Av Venezuela y Tte. Ecurra, Asuncion, Paraguay

Streptococcus pyogenes (SPY) es un estreptococo Betahemolítico del grupo A (GAS), morfológicamente caracterizado como un coco Gram positivo en pares o cadenas, inmóvil, aerobio facultativo. Coloniza tanto orofaringe como piel, afecta exclusivamente a humanos, y causa enfermedades invasivas y no invasivas, con mayor incidencia en niños menores de 5 años y mayores de 65 (5-7-20). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el GAS es la novena causa de muerte en el mundo. Hay 616 millones de casos no invasivos/año, mientras que 663.000 casos /año son invasivos, se estima que de estos, 117.000 son fatales. (2-8,9) La antibioticoterapia de elección es la penicilina, pero debido a la alta intolerancia también son usados los betalactámicos o macrólidos. No se relatan resistencias a los primeros sin embargo, si a los macrólidos (17-19). El GAS tiene varios factores de virulencia que son importantes en su capacidad infectiva. Para este trabajo se tuvo en cuenta a las exotoxinas pirogénicas (Spe), específicamente la SpeB que es cromosómica y según estudios es importante por su alta frecuencia, y las SpeA y SpeC que son plasmídicas y están relacionadas con las infecciones invasivas (10,12-16)Objetivo: El objetivo de este trabajo fue la Vigilancia de cepas de *Streptococcus pyogenes* remitidas al Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP) de 2018 a 2021 Metodología: Estudio retrospectivo, descriptivo, de corte transversal de 78 muestras recibidas en este periodo. Se realizó la detección molecular de los factores de virulencia SpeA (576 pb), SpeB (952pb), SpeC (405 pb) de acuerdo al protocolo descrito por Ulloa et al y Boreck et al (11-20) utilizando la técnica de Reacción de cadena Polimerasa (PCR). Se proceso el antibiograma usando la técnica de difusión Kirby Bauer de acuerdo con las especificaciones del CLSI.Resultado: De un total de 78 cepas remitidas, el 18% (14) pertenecían a menores de 5 años, 8% (6) eran mayores de 65 años y 74% (57) correspondían a individuos de 4 a 64 años o sin este dato. En cuanto al tipo de muestras, 30% (23) fueron aisladas de secreción faríngea, 45% (35) eran secreción purulenta, 3%(2) correspondían a absceso y 1% (1) de las muestras correspondían a hemocultivo, líquido ascítico y pleural, secreción traqueal y esputo respectivamente. Se realizo al 85% (66/78) de las muestras la detección de los factores de virulencia, 27%(18) eran SpeA, 76% (50) SpeB y 33% (22) SpeC. 40% (33/78) de las cepas fueron sometidas a antibiograma y ninguna presentó resistencia a los betalactámicos, mientras que 23/33 cepas resultaron resistentes a trimetoprin+sulfametoxazol.Conclusión: Los resultados obtenidos son similares a estudio previos. La mayor cantidad de cepas provenían de secreción faríngea, sin embargo, se pudo observar que existe un número importante de aislamientos de GAS en muestras de infecciones invasivas por lo que resulta necesario fortalecer la vigilancia, detectar otros factores de virulencia y proporcionar valiosos datos que permitan conocer la epidemiología molecular de GAS en nuestro país.

Financing: No aplica

Caracterización de cultivos de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) del serogrupo O157.

Sylvia Vázquez¹, Ana Caetano¹, Valeria Braga¹, Armando Navarro², Tamara Iglesias¹, Walter Norbis³, Felipe Schelotto¹, Andrés Iriarte⁴, **Gustavo Varela Pensado**¹

(1) Universidad de la República, Instituto de Higiene, Bacteriología y Virología, Medicina, Alfredo Navarro 3051, 24875795, MONTEVIDEO, Uruguay

(2) Universidad Autónoma de México, Salud Pública, Medicina, Av Universidad 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, DF México, México

(3) Universidad de la República, Laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces.

Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias, Iguá 4225. Piso 10, Ala Norte / 11400, MONTEVIDEO, Uruguay

(4) Universidad de la República, Instituto de Higiene, Desarrollo Biotecnológico, Medicina, Alfredo Navarro 3051, MONTEVIDEO, Uruguay

Introducción Las cepas STEC son un grupo heterogéneo con capacidad variable para producir daño en los seres humanos. En Uruguay, O157 no constituye el serogrupo más frecuentemente asociado a casos de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). El objetivo fue caracterizar un conjunto de STEC O157 recuperados localmente a partir de alimentos de origen animal, seres humanos y animales. **Materiales y métodos** Se analizaron 41 cultivos de O157 aislados entre 2005 y 2017 remitidos al Instituto de Higiene para confirmar y completar su caracterización. Sobre cada uno se realizó: PCR para los stx1 y 2 y subtipos, eae y variantes, H7, genes katP, espP, espJ, tccP, lpf, hcpA, iha, clados de virulencia, sitios de inserción de LEE, XbaI-PFGE y estudios de sensibilidad a los antimicrobianos por disco-difusión. **Resultados** Todas se confirmaron como *E. coli*, el 95% correspondió al serotipo O157:H7, 59% presentó el gen stx1, 95% el gen stx2, y 51% combinación de ambos. La distribución de las variantes stx1 fue la siguiente: stx1a 56%; stx1c 51%; stx1 a y c 51%; stx1a sola 5%. Con respecto a stx2 fue: 2a, 68%, 2c 78%; 2 a y c, 46%; solo 2c, 5%. El 93% fue positivo para eae y el 66% correspondió a la variante γ 1. La presencia de los genes lpf, hcpA, iha, F9, tccP, espJ, katP y espP se demostró en el 98%, 73%, 95%, 100%, 95%, 95%, 54%, y 83%, respectivamente. 2 aislamientos correspondieron al clado 8 y uno al 2. El sitio selC estuvo ocupado en el 100%, seguido por pheV (78%) y pheU (5%). La mayoría (32) se ubicaron en el mismo pulsogrupo (similitud \geq 80%), incluyendo los 2 aislamientos del clado 8. Un cultivo mostró resistencia in vitro para GM, SXT y AMP. **Discusión** Se confirma la circulación local de cepas O157:H7 en alimentos y seres humanos, portadoras de genes de virulencia reconocidos, incluyendo sus variantes y la poca variabilidad genética a lo largo del tiempo. Los datos sugieren la escasa participación de cultivos del clado 8; esto explicaría en parte las diferencias con otros países con respecto a la distribución de serogrupos STEC asociados a casos de SUH. Localmente, en los casos de SUH con aislamiento de STEC, predominan los serogrupos no-O157. También se destaca el aporte menor de este serogrupo al problema de la resistencia a los antimicrobianos.

Financing: Agencia Nacional de Investigación e Innovación, beca de postgrado para SV. Comisión Sectorial de Investigación Científica, Udelar.

Detección de *Staphylococcus aureus* resistentes en indumentaria de personal de enfermería de un hospital privado

Carlos Javier Melgarejo¹, Patricia Receda Fox Jimenez¹

(1) Universidad Privada del Este, Alto Parana, Ciencias de la Salud, Calle Mburucuya c/ Republica Km 6.8h. Barrio Mburucuya, Ciudad del Este, Paraguay

Staphylococcus aureus es una causa importante de infecciones intrahospitalarias. Se determinó la resistencia de la bacteria en indumentarias utilizadas por el personal de enfermería. Las muestras fueron cultivadas y procesadas mediante técnicas de bacteriología convencional. La cantidad de muestras recolectadas fueron un total de 100. De la totalidad se observó 62 aislamientos con *S. aureus*. Los aislamientos fueron confirmados mediante pruebas de coagulasa y catalasa. Se realizaron las pruebas de resistencia y sensibilidad in vitro con eritromicina, clindamicina, cefoxitina, ciprofloxacina y trimetropin – sulfametoxazol. De los *S. aureus* aislados, se observó resistencia en 56 (90,32%) a novobiocina, 48 (77,42%) a eritromicina, 46 (74,19%) a clindamicina, 39 (62,9%) a Trimetropin – sulfametoxazol, mientras que cefoxitina y ciprofloxacina fue de 12,9%. Concluimos que la indumentaria de la población estudiada actúa como portadores de *S. aureus* resistentes.

Financing: Universidad Privada del Este. Facultad de Ciencia de la Salud. Prof. Dr Manuel Riveros

Detección de SARS-CoV2 en hisopado nasofaríngeo y saliva por prueba en tiempo real de transcripción reversa isotérmica (iAMP® COVID-2019). Una alternativa rápida y más económica.

Chyntia Carolina Diaz Acosta¹, Adriana Valenzuela^{*2}, Magaly Martínez¹, Leticia Giménez², Maggali González Fernández², Leticia Rojas¹, Laura Franco¹, Fátima Cardozo², Alejandra Rojas³, María Eugenia Galeano Dinatale¹, Eva Nara¹, Rossana Arenas⁴, José Guillermo Pereira Brunelli⁵, Johana Karol Aranda Vera⁴, Johana Elizabeth Aranda Vera⁴, Yohanna Elizabeth Cáceres Coronel⁴, Kanan Desai⁶, Karla Alfaro⁸, Mauricio Maza⁸, Juan Felix⁷, Miriam Cremer⁸, Nicolas Wentzensen⁶, Laura Mendoza²

(1) Universidad Nacional de Asunción, Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Salud Pública, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay.

(3) Universidad Nacional de Asunción, Producción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay.

(4) Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Hospital Materno Infantil de San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay.

(5) Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Centro de Especialidades Dermatológicas, San Lorenzo, Paraguay.

(6) NIH, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, Rockville, USA.

(7) Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA

(8) Basic Health International, Pittsburgh, USA

La pandemia por COVID-19, enfermedad causada por el coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV2) presenta actualmente diferentes escenarios a nivel mundial. Paraguay se encuentra en un nivel elevado de riesgo presentando una rápida propagación del virus, con una amplia distribución de la variante gama (P1), un escaso nivel de vacunación y rodeado por países con notificación de casos por la variante delta. Adicionalmente, la pandemia ha tenido un fuerte impacto en el nivel de acceso a insumos y reactivos necesarios para realizar la detección viral por RT-PCR. Se impone, por lo tanto, la búsqueda de alternativas de diagnóstico más rápidas o simplificadas especialmente en países de escasos recursos como el nuestro. En el presente estudio se buscó determinar la sensibilidad y especificidad de una prueba en tiempo real de transcripción reversa (RT) isotérmica (iAMP® COVID-2019, ATILA) para detección de SARS-CoV2 utilizando muestras de hisopado nasofaríngeo (HNF) y saliva, comparada con un protocolo de RT-PCR en tiempo real convencional con blancos RdRP y N. El estudio incluyó 264 individuos (199 con y 65 sin síntomas) atendidos en el Hospital Materno Infantil de San Lorenzo, de diciembre 2020 a enero 2021. La RT isotérmica detecta los genes N y ORF-1ab en tiempo real y presenta la ventaja de no requerir extracción previa de ácidos nucleicos. Las muestras con resultados discordantes también fueron caracterizadas por una RT-PCR de tamizaje de variantes de preocupación que estudia 3 blancos virales; el gen N común a todos los SARS-CoV2; la región Spike y el gen ORF-1a del genoma del virus. En comparación al método convencional aplicado a las 264 muestras, ATILA en HNF mostró una sensibilidad de 0.8250 (IC95% 0,7274-0,8928) y especificidad de 0.9040 (IC95% 0.8516 a 0.9392). En cuanto al uso de ATILA con saliva, se observó una sensibilidad de 0.7294 (IC95% 0.6266-0.8124) y especificidad de 0.8772 (IC95% 0.8196-0.9183). Al incorporar los resultados de la RT-PCR de tamizaje de variantes que se aplicó a las muestras discordantes el método de ATILA obtuvo aun mejores valores de sensibilidad y especificidad, siendo para ATILA HNF una sensibilidad de 0.8750 (IC95% 0.7850-0.9307) y especificidad de 0.9379 (IC95% 0.8922-0.9649) y para saliva fue de 0.9000 (IC95% 0.8149-0.9485) y 0.9123 (IC95% 0.8603-0.9461) respectivamente. Además, la RT-PCR de tamizaje de variantes clasificó a las muestras estudiadas como wild type. Se decidió entonces seleccionar muestras de diferentes linajes que previamente fueron clasificados por secuenciación de genoma completo mediante la plataforma MinION. La RT isotérmica ATILA ha conseguido detectar muestras de diferentes linajes que circulan en nuestro país. En conclusión, los resultados sugieren que el uso de la RT isotérmica ATILA en HNF y/o saliva podría ser una alternativa rápida y más económica para detectar SARS-CoV2 y colaborar a frenar la propagación en nuestro país. * Chyntia Díaz y Adriana Valenzuela contribuyen de forma equitativa como primeros autores

Financing: Financiamiento: Intramural NCI Cancer MoonshotSM, Intramural Research Program and Basic Health International, USA.

Epidemiological characteristics and trends in hanseniasis in children under 15 years of age in the state of Rio Grande do Sul, Brazil

Alessandra Koehler¹, Paulo Cezar de Moraes^{1,2}, Letícia Maria Eidt², Danielle Machado Pagani³, Maria Lúcia Scroferneker^{1,4}

(1) Postgraduate Program in Medicine: Medical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

(2) Sanitary Dermatology Outpatient Clinic of Porto Alegre, Secretaria Estadual de Saúde do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

(3) Postgraduate Program in Agricultural and Environmental Microbiology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

(4) Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

Introduction: Hanseniasis (or leprosy) is an infectious contagious disease that represents a public health problem in Brazil. Its etiological agent is *Mycobacterium leprae*, which has a predilection for skin and nerves. Among infectious diseases, hanseniasis is considered one of the main causes of physical disability. The number of cases in children under 15 years of age is one of the most important indicators used by Brazil to determine the endemic status of the disease and its trend over time. The state of Rio Grande do Sul, in southern Brazil, has historically maintained a trend of low endemicity of the disease in all age groups. However cases in children under 15 years of age continue to be diagnosed. **Methods:** Retrospective, observational and analytical study of a historical series of new cases of hanseniasis in under children under 15 years of age, diagnosed between 2000 and 2019 in all health services in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Results:** 77 new cases were notified in the study period for this age group. Male gender was predominant in 53.2% of cases (n = 41). The mean age was 10.4 years (standard deviation = 2.9), with a predominance of the age group between 10 and 15 years of age. The most frequent operational classification was multibacillary, in 62.3% of cases (n = 48) and the most common clinical form was dimorphous in 36.4% of cases (n = 38). The predominant degree of physical disability in the sample was degree zero, in 77.9% of the cases (n = 60), but in 3.9% (n = 3) the evaluated degree was II. In 40.7% of the cases (n = 27) bacilloscopy was performed, with a positive result in 33.3% (n = 9) of the exams. **Conclusions:** The predominance of multibacillary cases and associated dimorphous clinical form and physical incapacity already present in the identification of the disease signals a late diagnosis and risk of permanent physical incapacity, suggesting the absence of early evaluations of these cases. Positive bacilloscopy indicates that the disease is not under control and its spread remains. To change this trend, early diagnosis, surveillance and health education, and strengthening of the state hanseniasis control program are needed.

Financing: None to declare.

Condilomatosis oral y su posible transmisión materna. Caso Clínico

María Liz Bobadilla¹, Moraima Faella², Cristina Alarcón³, Rocío Violeta Ortiz¹, Verónica Villagra¹

(1) Laboratorio Central de Salud Pública, Departamento de Inmunología

(2) Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y del Ambiente (INERAM)

(3) Instituto de Medicina Tropical (IMT)

Introducción. La condilomatosis oral es una enfermedad inducida por el virus papiloma humano (VPH) de tipos 6, 11 y 42. Suele considerarse que el hallazgo de estas lesiones en niños es motivo suficiente para investigar los hechos como posible caso de abuso sexual; sin embargo, existe la posibilidad de que la vía de contagio sea no sexual, donde la madre parece ser el principal transmisor del VPH al recién nacido. **Objetivo.** Describir lesión bucal encontrada y dar tratamiento adecuado a las necesidades del paciente. **Caso clínico.** Paciente masculino de 5 años, procedente de San Estanislao (San Pedro), acudió al Consultorio Odontológico del INERAM, el motivo de la consulta fue una lesión en boca. La madre refiere que dos años atrás, el niño sufrió un fuerte golpe, quedando la encía con cambio de color, y posterior aumento de tamaño del tejido en la zona. En la exploración clínica intraoral se observó una lesión sobre la mucosa gingival a nivel del incisivo central-superior-izquierdo, incisivo lateral-superior-izquierdo por vestibular y palatino; presentaba aspecto parecido a la coliflor, una superficie digitiforme, con crecimiento exófitico y base sésil, de coloración rosada. No se observaron lesiones de caries y el paciente se encontraba en dentición temporaria con todas las piezas presentes. Tras evaluación del caso, con resultados laboratoriales dentro de rangos normales y con diagnóstico presuntivo de granuloma piógeno, se procedió a la biopsia incisional de la lesión para su examen anatomopatológico. El material examinado mostró epidermis con marcada acantosis, papilomatosis irregular y formación de espículas digitiformes, evidenciándose células con cambios nucleares sugestivos de infección por VPH, el diagnóstico fue condiloma acuminado sin focos de displasia. Con este resultado y habiéndose reportado a las autoridades pertinentes, se realizó la investigación multidisciplinaria con los padres del niño, encontrándose múltiples lesiones de aspecto verrugoso en la areola del pezón de ambas mamas de la madre, que fueron biopsiadas para su estudio anatomopatológico, cuyo diagnóstico fue verruga viral, sin observación de atipias. Por otro lado, como la madre del niño se encontraba embarazada de 8 meses, no pudo realizarse otro procedimiento para descartar lesiones en cérvix. Posteriormente, se realizó la biopsia excisional de las lesiones orales del niño, derivando muestras para estudio anatomopatológico, dando el diagnóstico de condiloma acuminado. Por otro lado, se obtuvo una muestra por cepillado de la lesión para la detección/tipificación del VPH mediante reacción en cadena de la polimerasa e hibridación con sondas específicas en el LCSP, identificándose el VHP-6. **Conclusión.** La frecuencia de condilomas en la infancia en consulta odontológica es casi nula. Se cuenta con poca información sobre su prevalencia/incidencia en niños de nuestro país. Con el resultado del diagnóstico histopatológico de las lesiones de la madre, se estableció posible transmisión del virus de la madre al niño. El tratamiento recomendado para estas lesiones consiste en la extirpación quirúrgica de la lesión, pero como las recidivas suelen ser frecuentes, se realizará el seguimiento/control del paciente en consultorio. Además, quedan pendientes estudios en la madre y en el recién nacido.

Financing: Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social

Análisis bioinformático de la virulencia en genomas de *Escherichia coli* Adherente-Invasiva (AIEC) depositados en bases de datos públicas

Montserrat Aguirre-Lara¹, Patricia Lozano-Zarain¹, María Guadalupe Balbuena-Alonso¹, Gerardo Cortés-Cortés², Margarita María de la Paz Arenas-Hernández¹, Rosa del Carmen Rocha-Gracia¹

(1) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Instituto de Ciencias, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Edificio IC-11, Ciudad Universitaria, Jardines de San Manuel, CP. 72570, Puebla, México

(2) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Instituto de Ciencias, Postdoctoral Conacyt, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Edificio IC-11, Ciudad Universitaria, Jardines de San Manuel, CP. 72570, Puebla, México

Introducción: La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) es un conjunto de enfermedades que afectan al tubo digestivo, provocando procesos inflamatorios que pueden ir desde la boca del estómago hasta el ano. Dentro de este padecimiento se incluyen la Colitis Ulcerosa Crónica Idiopática, la Enfermedad de Crohn y la colitis indeterminada o inclasificable. Estos padecimientos pueden originarse por causas multifactoriales, dentro de las cuales destaca la presencia de un patotipo de *E. coli* relativamente nuevo, *Escherichia coli* Adherente/Invasiva (AIEC). **Objetivo:** Hasta el momento la identificación de AIEC sólo puede llevarse a cabo de manera fenotípica por medio de ensayos de adherencia, invasión, supervivencia en macrófagos y formación de biofilm. Es por ello que en el presente trabajo se analizaron *in silico* los determinantes de virulencia presentes en genomas de *E. coli* identificadas como AIEC, que están depositados en bases de datos públicas. **Métodos y Resultados:** Se identificaron 30 genomas AIEC en las bases de datos Patric 3.6.9 y Pathogens, los cuales se descargaron del GenBank, con una fecha de corte hasta el 31 de mayo de 2021. Con ayuda de las herramientas bioinformáticas Serotype Finder (v 2.0), ClermonTyping y PubMLST se identificó al serotipo O25:H4 como el más frecuente (16.6% de los genomas), al igual que el filogrupo B2 (76.6%) y el secuenciotipo ST131 (16.6%). También se identificaron genes asociados a virulencia en la mayoría de los genomas analizados (96.6%), siendo *fimH*, *fdeC*, *ompC*, *chiA*, *yfgI*, *htrA*, *dsba*, *yjaA* y *ehaG*, los más prevalentes, mismos que están involucrados en la adherencia, invasión, supervivencia en macrófagos y formación de biofilm. Cabe destacar que los genes *ipaH*, *ompT*, *ar1A*, *hlyF*, *ibeA*, *lpf* se encontraron en menor frecuencia (13 – 46.7%). **Conclusión:** Con la información obtenida se puede dar paso al uso de ciertos biomarcadores para identificar genotípicamente a cepas de AIEC asociadas a EII, lo que ayudará a disminuir el tiempo de identificación, diagnóstico y así otorgar un tratamiento eficaz que mejore la calidad de vida de los pacientes con EII.

Financing: Proyecto CONACYT A1-S-22136 del fondo FOSEC SEP-Investigación Básica.

PREVALENCIA DE CO-INFECCIONES ENTRE SARS-CoV-2 Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS EN PACIENTES INTERNADOS EN UN HOSPITAL DE REFERENCIA DE PARAGUAY

Alexander Araujo¹, José Pereira², Soledad Soverina², Idalina Franco², Amiliana Pineda², Monserrat Aldama², Fernando Arevalos², Federico Fretes³, Ricardo Caballero³, Silenne Avila³, Iris Colman³, Lourdes Samaniego¹, Melisa Florentin²

(1) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Mcal López 3492 c/ 26 de febrero, San Lorenzo, Paraguay

(2) Centro de Especialidades Dermatológicas, Laboratorio de Microbiología, Av. Dr. Gabriel Pellón c/ Azara, San Lorenzo, Paraguay

(3) Hospital de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Av. Mcal López c/ Cnel Casal, San Lorenzo, Paraguay

Introducción: La pandemia del Síndrome Respiratorio Agudo Severo por Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) coexiste con la circulación de otros microorganismos, entre ellos otros virus que causan afecciones respiratorias graves. Si bien el diagnóstico rápido y preciso de SARS-CoV-2 es particularmente importante, el cuadro respiratorio puede deberse a la infección por otros virus respiratorios, incluso a co-infecciones virales. En la actualidad debido a la pandemia existente, la mayoría de los estudios para diagnóstico de afecciones respiratorias en Paraguay, se centra principalmente en la detección de SARS-CoV-2, quedando descuidado las demás etiologías respiratorias, como también las posibles co-infecciones existentes. Es importante detectar los microorganismos que coinfectan junto al SARS-CoV-2, de manera a asegurar un tratamiento óptimo y saber si la co-infección está relacionada a un peor pronóstico; ya que tendría una implicancia directa en la salud pública, por el cual el objetivo de éste estudio fue determinar la prevalencia de co-infecciones con otros virus respiratorios en pacientes SARS-CoV-2 internados en el Hospital de Clínicas- Paraguay, durante el periodo de Marzo a Mayo 2021. **Materiales y Métodos:** En este estudio descriptivo de corte transversal, se analizaron 51 muestras respiratorias (lavado broncoalveolar o secreción traqueal) de pacientes internados en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital de Clínicas, que es un hospital centinela de infecciones respiratorias en el periodo de Marzo a Mayo del 2021. Luego de la obtención de las muestras respiratorias se procedió a la extracción de ácidos nucleicos por método automatizado, posteriormente se realizó la detección de SARS-CoV-2 y otros virus respiratorios, mediante RT-PCR en tiempo real y PCR multiplex respectivamente, se contaron con las fichas epidemiológicas y clínicas completa de dichos pacientes. **Resultados:** Se identificaron co-infecciones entre SARS-CoV-2 y otros virus respiratorios en el 21 % de las muestras analizadas, donde la co-infección con mayor frecuencia observada fue metapneumovirus/SARS-CoV-2 y rinovirus/SARS-CoV-2. El 53% de los pacientes correspondieron al sexo masculino y el 47% del sexo femenino, el rango de edad estuvo comprendido entre 26 a 74 años. Entre las características clínicas más importantes, se observó que el 100% de los pacientes presentaron dificultad respiratoria y postración. Con relación a las co-morbilidades, el 94,1% presentaron alguna co-morbilidad, la más frecuente fue la obesidad en un 60%, seguida de la hipertensión arterial con 56% y diabetes mellitus 2 con 47% respectivamente. **Conclusión:** Se logró describir las características demográficas, clínicas y co-morbilidades de los pacientes en estudio, como también co-infecciones más frecuentes entre SARS-CoV-2 y otros virus respiratorios. Las co-infecciones detectadas corresponden a rinovirus/SARS-CoV-2, Metapneumovirus/SARS-CoV-2 y Adenovirus/SARS-CoV-2, Influenza A/SARS-CoV-2, Influenza B/SARS-CoV-2, Parecovirus/SARS-CoV-2, Coronavirus OC43/SARS-CoV-2. Este estudio proporciona información científica actualizada, que puede ser utilizado como referencia para la prevención de casos graves relacionados a cuadros de co-infecciones con SARS-CoV-2 mediante tratamientos clínicos adecuados y oportunos, pudiendo así incluso disminuir los casos graves o la mortalidad.

Financing: Los reactivos empleados fueron donados por la empresa Biotec del Paraguay S.A.

Evaluación de dos métodos fenotípicos para la detección de biopelícula formada por aislados clínicos de *Listeria monocytogenes*

Gloria Abigail Vilchis Garduño^{1,2}, María del Rosario Espinoza Mellado¹, Oscar Rodolfo Rodas Suárez Rodas Suárez²

(1) Escuela Nacional de Ciencias Biológicas - IPN, Depto. de Investigación, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, C.P. 11340, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México, México

(2) Escuela Nacional de Ciencias Biológicas - IPN, Depto. de Microbiología, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, C.P. 11340, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México, México

Listeria monocytogenes es el agente etiológico de la listeriosis y un patógeno intracelular facultativo que tiene la capacidad de proliferar en ambientes fríos y húmedos, así como adherirse a superficies vivas e inertes, formando sobre ellas una biopelícula (biofilm), la cual es una fuente importante y constante de contaminación para los alimentos y el ambiente hospitalario. Debido a la prevalencia y a las altas tasas de mortalidad de cuadros clínicos como romboencefalitis, meningitis y abortos causados por *L. monocytogenes*, es importante estudiar la capacidad de este microorganismo para formar biopelícula como una estructura de persistencia y evaluar la exactitud y confiabilidad de los métodos fenotípicos para su detección. Para evaluar la capacidad de los métodos fenotípicos gelosa rojo Congo (GRC) y cristal violeta (CV), primero se realizó el aislamiento de *L. monocytogenes* a partir de 16 muestras clínicas de sepsis neonatal, una vez aisladas e identificadas, se determinó cualitativamente la formación de biopelícula de las 16 cepas de *L. monocytogenes* a través del método en GRC a las 21 y 42 h de incubación, identificando 5 cepas altas formadoras de biopelícula, 10 bajas formadoras y 1 no formadora. Los resultados de la determinación cuantitativa de biopelícula por el método de CV fueron analizados a través de la prueba estadística ANOVA unifactorial, donde se identificaron 5/16 cepas como moderadas formadoras y 11/16 como bajas o no formadoras de biopelícula. Posteriormente, para determinar la exactitud en la detección de biopelícula del método GRC, se realizó un análisis estadístico, calculando los parámetros de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo y exactitud, considerando al método de cristal violeta como el método de referencia. La sensibilidad y especificidad del método en GRC fue de 60 % y 81.8 %, respectivamente. De 16 aislados de *L. monocytogenes*, GRC detectó 93.75 % como formadores de biopelícula, en comparación con el método de cristal violeta, que detectó el 87.5 %; sin embargo, se encontró que mediante el método GRC, 2 aislados eran falsos positivos y 2 falsos negativos, de modo que, el método tiene una exactitud del 75 %. Con base a lo anterior, se concluyó que el método de GRC tiene menor especificidad y sensibilidad con respecto al método CV, por lo que, el primero sólo permite el cribado de las cepas, pero requiere de la confirmación por el método de CV.

Financing: Proyecto SIP 20200585: Efecto del almidón resistente tipo 3 en el microbioma y función intestinal en un modelo murino.

Association of menadione and terpenes for pump efflux inhibition in ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates

Maria Anndressa Alves Agreles¹, Davi de Lacerda Coriolano¹, **Luís André de Almeida Campos**¹, Alexsandra Maria Lima Scavuzzi², Ana Catarina Souza Lopes², Isabella Macário Ferro Cavalcanti^{1,3}

(1) Federal University of Pernambuco, Laboratory of Immunopathology Keizo Asami, Sector of Clinical Microbiology, Av. Prof. Moraes Rego - Cidade Universitária, Recife, Brazil

(2) Federal University of Pernambuco, Department of Tropical Medicine, Center of Sciences of Health, Av. Prof. Moraes Rego - Cidade Universitária, Recife, Brazil

(3) Federal University of Pernambuco, Academic Center of Vitória de Santo Antão, Laboratory of Microbiology and Immunology, R. Alto do Reservatório - Alto José Leal, Vitória de Santo Antão, Brazil

In recent decades, the irrational use of antibiotics has stimulated antimicrobial resistance and the high spread of resistance genes among bacteria. Microorganisms considered a public health problem is the bacterium *Klebsiella pneumoniae*. *K. pneumoniae* causes infections of the respiratory tract, urinary tract, and bloodstream infections. In strains of this microorganism, the expression of efflux pumps is observed as one of the main resistance mechanisms. In this sense, therapy using an inhibitor of efflux pumps, such as vitamins and phytochemicals, is a promising strategy to make bacteria previously resistant to bacteria sensitive to these antibiotics. Thus, this work aimed to analyse the potential of menadione and terpenes, terpinen-4-ol and camphene, as efflux pump inhibitors against isolates of ceftazidime-resistant *K. pneumoniae* by producing efflux pumps. Initially, the identification of isolates carrying the *acrB* gene was performed through PCR. Then, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the ceftazidime (CAZ) against these isolates was determined by the broth microdilution method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute to verify their resistance. Finally, the MIC of the CAZ combined with each of the compounds in the subinhibitory concentration (MIC/2) was determined by the checkerboard method. Twenty isolates were collected and five showed positive results for the presence of the *acrB* gene. The MIC of CAZ for these five isolates ranged between 16 and 512 µg/mL indicating resistance to CAZ according to CLSI 2021. In the combination of CAZ with menadione, terpinen-4-ol and camphene, 4-8 fold reduction in MIC was observed in four isolates with MIC values ranging from 1 to 4 µg/mL after combination, indicating isolate sensitivity to CAZ. Thus, the association of CAZ with menadione and terpenes promoted a reduction in MIC, indicating that these compounds have inhibitory potential on bacterial efflux systems. Furthermore, it supports that adjuvant therapy between drug and efflux pump inhibitor is a promising strategy in the treatment of infections caused by efflux pump-producing resistant *Klebsiella pneumoniae*.

Financing: Foundation for Science and Technology Support of Pernambuco (FACEPE) and National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

Acanthamoeba sp en úlcera de córnea: Reporte de un caso

CAROLINA DURE¹, Vanessa Irrazabal², EDGAR DUARTE², ROSA MARIA GUILLEN FRETES¹

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Dpto. de Microbiología, Universidad Nacional de Asunción, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

(2) Fundación Visión, Asunción, Paraguay

Introducción: Acanthamoeba es un género de amebas de vida libre que puede encontrarse en ambientes como suelo y el agua con capacidad de formar quistes y mantener su viabilidad a largo plazo. Ha sido asociada a patologías en humanos causando infecciones diversas, incluyendo la queratitis amebiana que suele presentarse en usuarios de lentes de contacto. La lesión puede evolucionar con mal pronóstico si no recibe el tratamiento adecuado, por lo que el diagnóstico diferencial es esencial. **Objetivo:** Presentar características clínicas y las herramientas de diagnóstico microbiológico y molecular en un caso de queratitis amebiana causada por Acanthamoeba sp. **Metodología:** La evaluación clínica fue realizada por oftalmólogos de la Fundación Visión. El material de la úlcera de córnea, así como los lentes de contacto de la paciente fueron remitidos al IICS para cultivo de gérmenes comunes y hongos, así como para la detección de Acanthamoeba spp. por PCR convencional. La extracción de ADN se realizó con el kit Wizzard Genomics, Promega siguiendo las especificaciones del fabricante. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 2% teñidos con SYBR Safe. **Resultados:** Paciente, femenina de 22 años de edad, usuaria de lentes de contacto blandas, proveniente de Ciudad del Este acude a la consulta oftalmológica por dolor, fotofobia, lagrimeo, ojo rojo y disminución de la agudeza visual en ojo derecho con tres semanas de evolución. El examen en fresco del material de la úlcera y los lentes de contacto detectó quistes de forma redondeada y doble pared compatibles con Acanthamoeba spp. La PCR detectó ADN de Acanthamoeba spp. Se observó la diferenciación de quistes a trofozoitos a los 7 días en medio PAGE. No se aislaron gérmenes comunes ni hongos a partir de las muestras. El tratamiento de la paciente se realizó con Clorhexidina al 0.05% (Biguanida). Se llevó a cabo la monoterapia con Acanthamoebicidas debido a que en el país no se dispone de la propamidina (Icetonato de dibromopropamidna colirio al 0,1% (Brolene®) Este tratamiento específico para Acanthamoeba fue implementado en apenas 24 hs gracias a la confirmación laboratorial, con buena evolución de la lesión a los 5 días de seguimiento. **Conclusión:** El diagnóstico diferencial de la queratitis causada por amebas es importante para la elección de medidas terapéuticas apropiadas y eficientes. Los datos microbiológicos y moleculares generan información clínicamente significativa que contribuye a terapias efectivas y un mejor pronóstico de evolución en el paciente afectado por este patógeno. **Palabras clave:** Acanthamoeba spp., queratitis, PCR

Financing: Este trabajo no cuenta con financiación externa

Desarrollo de un test de saliva basado en LAMP y CRISPR/Cas para la detección de SARS-CoV2

Eduardo de Mello², Paula Da Cunda¹, Ana María Ibáñez¹, Felipe Burgos¹, María José González¹, **PAOLA SCAVONE**^{1,2}

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Departamento de Microbiología, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

(2) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Laboratorio de Bioseguridad, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay

La COVID-19 es una enfermedad respiratoria originada por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2. El brote que comenzó en Diciembre de 2019 planteó desafíos al momento del diagnóstico. Los métodos existentes son sensibles y rápidos pero requieren una extensa manipulación de las muestras. Por otro lado, los de antígeno requieren muy poco o ningún equipamiento pero tienen menor sensibilidad y especificidad. El otro cuello de botella que se ha presentado es la toma de muestra es que requiere personal calificado y que conlleva riesgos para el personal de salud. Estudios recientes, mostraron que el diagnóstico a partir de muestras de saliva es económico, simple y puede realizarlo el propio paciente. El test de diagnóstico rápido de COVID está basado en la tecnología de dos reacciones combinadas secuencialmente. La primera es nominada "one-step reverse transcription and loop-mediated isothermal amplification" y se conoce como RT-LAMP, y la segunda como Crispr-Cas. Primeramente se realiza un paso de inactivación viral de la saliva. Luego, se amplifica genes virales específicos (N y/o E) mediante la reacción de RT-LAMP que luego son detectados por la segunda reacción Crispr-Cas. El resultado se visualiza mediante una tira reactiva ya que la enzima (Crispr-Cas) al encontrar el target (secuencia específica viral) corta un segmento del reportero que se unirá específicamente a la tira reactiva para dar una señal de presencia o ausencia del virus en la muestra, similar a como se visualiza un test de embarazo. Como control interno se utilizó el gen RNase P. Estudiamos la posibilidad de realizar pooles de saliva de hasta 10 muestras comparando la reacción de RT-LAMP y qPCR. Este test de diagnóstico rápido en muestras de saliva fue comparado con la técnica de hisopado nasofaríngeo y RT-PCR en más de 350 muestras pareadas. Al comparar las dos técnicas se observó que el test rápido tiene una sensibilidad relativa que puede llegar al 83% y una especificidad relativa del 97,7% con una precisión diagnóstica que supera el 98%. El límite de detección establecido fue de 2 copias/ul. En el Pool de salivas se observó inhibición de las reacciones tanto de LAMP como de qPCR. Al realizar diluciones del pool, esa inhibición se revierte. El uso de 10 muestras de saliva por pool es un método de screening rápido y asequible, acorde para la evaluación de la presencia del material genético de SARS-CoV-2 mediante qPCR. El límite de detección observado para el pool de salivas fue de 10 copias/ul. El diagnóstico empleando saliva es un método no tradicional con creciente evidencia de su potencial. Es un método simple y accesible que permite un testeo frecuente y masivo planteando una alternativa al hisopado nasofaríngeo. La toma de muestra de saliva es mínimamente invasiva, puede ser realizada por el propio usuario sin requerimientos de hisopos, personal de la salud y equipos de protección personal y los resultados se obtienen en menos tiempo (45 minutos) que el método de hisopado y qPCR.

Financing: Grupo #NoscuridadmosentretodosSantander-Zurich

Bacteroides fragilis: agente de osteomielitis en un paciente adulto.

Martha Marin Ricart¹

(1) Hospital Nacional de Itauguá, Central, Itauguá, Paraguay

Bacteroides fragilis: agente de osteomielitis en un paciente adulto. Introducción *Bacteroides fragilis* es un grupo de bacilos gram negativos anaerobios obligados, no formadores de endoesporas relevante en aislamientos a partir de sitios estériles como en médula ósea. Produce toxinas que favorecen la necrosis por destrucción principalmente de macrófagos y neutrófilos, y se le asocia con morbilidad elevada. Caso clínico. Varón de 35 años que tuvo accidente de moto cuatro años antes, causando herida en pierna izquierda, con cóndilos femorales expuestos, fractura segmentada de tibia y peroné y rotura de ligamentos. Se le colocó tutor externo, posteriormente clavo endomedular. Tuvo varios ingresos al Hospital Nacional por fiebre, con evidente infección en herida de pierna, donde en todas las ocasiones desarrolló *Staphylococcus aureus* meticilino sensible, y fue tratado con Ciprofloxacina y Oxacilina, con aparente remisión de la infección. En el último ingreso el paciente presentaba dolor en miembro inferior izquierdo con abundante secreción purulenta, que emanaba a través de la fístula. En el frotis con Gram se observó bacilos gram negativos. En el medio de tioglicolato se observó bacilos gram negativos pleomórficos y algunos con hinchazones debido a la producción de vacuolas. En medios aerobios no se obtuvo desarrollo bacteriano. En agar sangre de carnero 5% y en agar chocolate incubados en anaerobiosis a las 48 horas se observaron colonias grisáceas, no hemolíticas, circulares y de borde continuo. A partir del agar sangre se realizaron las pruebas: catalasa (+); hidrólisis de la esculina (+); urea (-). El sistema automatizado VITEK[®]2 identificó como *Bacteroides fragilis*, además se confirmó por espectrometría de masas MALDI.TOF, obteniéndose el mismo resultado con una identificación de alta confianza. El estudio de sensibilidad se realizó por el método epsilométrico con tiras con gradiente, utilizando agar Brucella suplementado con hemina y Vitamina K1 y 5% de sangre de carnero, donde fueron sensibles: Clindamicina, Piperacilina/Tazobactam, Meropenem, Imipenem y Cefotaxima.. Luego del informe, el paciente fue sometido a una saucerización y fue tratado con Clindamicina y lavados con solución Dakin-Carrel con Metronidazol. Al cabo de 24 días de antibioticoterapia se pudo constatar crecimiento y regeneración del tejido muscular, y a los dos meses el paciente fue dado de alta con remisión total de la necrosis, con el tejido muscular regenerado casi en su totalidad. Dos años después del desarrollo del *Bacteroides* el paciente se encuentra asintomático y sin signos clínicos de infección. Conclusión. El interés en reportar este caso se debe a que el grupo *Bacteroides fragilis* es agente raramente reportado en casos de osteomielitis, pero debe ser considerado su estudio investigando en todo material estéril, identificando a la bacteria y determinando el perfil de sensibilidad dado que en la actualidad se advierte resistencia a los antimicrobianos primariamente activos, lo que hace poco predecible su efectividad.

Identificación molecular de cepas del complejo *C. parapsilosis* procedentes de muestras clínicas

MARÍA CELINA VEDOYA VEDOYA^{1,2}, Vanesa M.E. Sosa^{1,2}, María Isabel Fonseca^{1,2}, Karina Salvatierra¹, Pedro Zapata^{1,2}

(1) Universidad Nacional de Misiones, Laboratorio de Micología "Dra. Martha G. Medvedeff, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Av. Mariano Moreno 1375, Posadas, Argentina

(2) Universidad Nacional de Misiones, Instituto de Biotecnología Misiones (InBioMis), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Ruta 12 Km 7,5 Miguel Lanus, Posadas, Argentina

Las especies del complejo *C. parapsilosis* no pueden diferenciarse por los métodos fenotípicos clásicos, utilizados corrientemente en los laboratorios de micología; dado que las tres especies que lo componen, presentan las mismas características morfológicas, de crecimiento y perfiles de asimilación y fermentación de azúcares. Sin embargo, esta limitación de los caracteres morfológicos y bioquímicos para diferenciar estas levaduras estrechamente relacionadas, así como la laboriosidad requerida en su estudio y, en algunos casos, la insuficiente resolución que proporcionan a nivel taxonómico, ha propiciado el uso de las técnicas moleculares. En base a la heterogeneidad hallada en las regiones ITS1, ITS2 y la secuencia de ADN ribosomal 5,8s (ADNr), se determinó que este complejo está integrado por levaduras genotípicamente diferentes, y se las denominó *C. parapsilosis* s.s. (grupo I), *C. orthopsilosis* (grupo II), y *C. metapsilosis* (grupo III). El objetivo de este trabajo fue establecer la frecuencia de especies crípticas de las cepas clínicas identificadas originalmente como del complejo *C. parapsilosis*. Se analizaron 53 cepas identificadas originalmente por métodos fenotípicos, como complejo *C. parapsilosis* provenientes de aislamientos de muestras clínicas, depositadas en la colección de la Cátedra de Micología de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (FCEQyN) de la Universidad de Misiones (UNaM). Se utilizó la secuenciación de la región ITS1-5,8S- ITS2 para la identificación molecular de cepas catalogadas como complejo *C. parapsilosis*. En la población analizada, la frecuencia de las distintas especies que integran el complejo *C. parapsilosis* fue: *C. parapsilosis* s.s. (grupo I) en una frecuencia del 85% (45/53), *C. metapsilosis* (grupo III) en un 11% (6/53) y *C. orthopsilosis* (grupo II) en un 4% (2/53). Se determinó que dentro del complejo *C. parapsilosis* mantenidas en la colección de cepas de la FCEQyN (UNaM), la especie predominante fue *C. parapsilosis* s.s., seguida de *C. metapsilosis* y *C. orthopsilosis*. Las técnicas moleculares han asistido y complementado a la clasificación. En la actualidad se usan datos moleculares para establecer relaciones filogenéticas entre organismos. Además, representan métodos alternativos al cultivo, cuya intención es mejorar la rentabilidad de las pruebas microbiológicas y se aplican en el diagnóstico de infecciones fúngicas. Palabras claves: complejo *Candida parapsilosis*, identificación molecular

Infecciones por *Escherichia coli* Diarreogénica: Cambios en la microbiota y niveles de ácidos grasos de cadena corta (SCFA).

Dana Piras¹, Mariana Izquierdo¹, Pablo Gallardo¹, Mauricio Farfán¹

(1) Centro de estudios moleculares, Departamento de pediatría, Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna, Universidad de Chile, Antonio varas 360, Providencia, Santiago, Chile

Antecedentes: La microbiota y los metabolitos intestinales han sido propuestos como responsables de la mantención de la homeostasis intestinal y la prevención de la colonización por patógenos entéricos, como *Escherichia coli* diarreogénica (DEC). Entre estos metabolitos, los ácidos grasos de cadena corta (SCFA por sus siglas en inglés) son los productos más abundantes de la fermentación bacteriana, siendo controversial su rol en el desarrollo de la enfermedad diarreica. Aunque distintas investigaciones le han otorgado un factor protector a los SCFA, otros los han vinculado con un aumento en la expresión de factores de virulencia de patógenos entéricos, y posiblemente favorecer el proceso de infección. De esta manera, en este trabajo se determinaron los niveles de SCFA en muestras de deposición menores de 5 años, con y sin diarrea, y su relación con la presencia de bacterias productoras de SCFA en la microbiota de cada grupo. **Metodología:** Se analizaron 40 muestras diarreicas positivas para un patotipo de DEC y 43 muestras de deposición de niños sanos, todos entre 1 y 5 años. Mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se determinó la concentración de los SCFA acetato, propionato y butirato en las muestras de deposición. Adicionalmente, se secuenció la región V3-V4 del gen rRNA 16S mediante miSeq 2 x 250 pb. Las secuencias se analizaron mediante Qiime2 y DADA2 para la generación de amplicones de secuencia variante y se utilizó la base Silva 138 para la clasificación taxonómica. A partir de esta información, se evaluaron los niveles de abundancia relativa para diferentes géneros asociados a la producción de SCFA. **Resultados:** A partir de los datos de la cuantificación de SCFA y del análisis de microbiota, se obtuvo que las muestras diarreicas presentaron una composición distintiva respecto a las muestras control. En las muestras de diarrea, se encontraron niveles más altos de acetato, propionato y butirato comparadas con las muestras de niños sanos. Se encontró una menor diversidad bacteriana en muestras diarreicas, con una mayor proporción de Proteobacterias y una menor proporción de Firmicutes y Bacteroidetes, comparado con el grupo control. En comparación a los niños sanos, se encontraron niveles totales más altos de bacterias productoras de propionato, destacando el género *Veillonella* sp. (4,9% vs 0,2%, $p=0.014$) y respecto a la producción de acetato, se observó un aumento del género *Streptococcus* sp. (3,9% vs 0,6% $p<0.001$). Respecto a los otros géneros evaluados, no se observaron aumentos en el grupo DEC respecto al grupo control. **Conclusiones:** Encontramos una microbiota característica asociada a muestras de diarreas positivas para los patotipos DEC, además de un aumento significativo en los niveles de SCFA comparado con deposiciones de niños sanos, que se podría asociar a la presencia de las bacterias productoras de SCFA, entre ellas, los géneros *Veillonella* y *Streptococcus*.

Financing: FONDECYT 1200994. Proyecto ERANet17/HLH-0145

¿El sexo influye sobre la respuesta IgG anti-leptospira en seres humanos?

TAMARA IGLESIAS SÁNCHEZ¹, Ana Caetano¹, Juan Pablo Geymonat¹, Paulina Meny¹, Clara Menéndez¹, Jair Quintero¹, Gustavo Varela¹, Ana Hernández², Gustavo Mourglia-Ettlin², Felipe Schelotto¹

(1) Universidad de la República, Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Dr. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

(2) Universidad de la República, Instituto de Higiene, Departamento de Inmunología, Facultad de Química/ Facultad de Ciencias, Dr. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

Introducción: La leptospirosis es una enfermedad zoonótica prevalente en todo el mundo causada por espiroquetas patógenas del género *Leptospira*. La transmisión se produce a través del contacto directo con tejidos, órganos, sangre u orina de huéspedes infectados y/o por contacto indirecto con el ambiente contaminado. Existen reportes de enfermedades infecciosas como tuberculosis, listeriosis, fiebre Q e incluso COVID-19, en las cuales se ha demostrado que el sexo influye tanto en la gravedad de la sintomatología como en su recuperación. No se ha podido establecer aún si la gravedad de la infección es causada por propiedades patógenas de la bacteria o a la respuesta inmune del huésped. Las inmunoglobulinas actúan en la defensa contra los microorganismos extracelulares y las toxinas producidas, y dependiendo de la naturaleza de los antígenos, la frecuencia y duración del estímulo, la respuesta puede variar en la distribución de isotipos. **Objetivo:** Evaluar la respuesta inmune de IgG anti leptospira en diferentes grupos de mujeres y hombres. **Métodos:** Se estudiaron 302 sueros de pacientes de ambos sexos (89 mujeres y 213 hombres) que fueron categorizados como positivos, reactivos y negativos de acuerdo al resultado de 2 muestras consecutivas de suero (10 días de diferencia) analizadas por la técnica de microaglutinación. El título de anticuerpos IgG se estableció probando diluciones seriadas de todos los sueros en un ensayo de ELISA indirecto "casero", utilizando como antígeno de captura un extracto homogéneo de 6 serovares de *Leptospira interrogans* y *Leptospira borgpetersenii*. Los anticuerpos anti-leptospira se revelaron con un anticuerpo monoclonal comercial de ratón anti-IgG humana conjugado con peroxidasa, midiendo luego la absorbancia a 450 nm. El título se definió como el inverso de la mayor dilución con valor de absorbancia superior al "cut-off" (promedio de las absorbancias de los blancos + 10 desvíos estándar). Los resultados se analizaron por el test de Mann-Whitney considerando significativas las diferencias con $p \leq 0.05$. **Resultados y conclusiones:** De la comparación entre título IgG para hombres y mujeres positivos surgió que los primeros presentaron valores mayores ($p=0.0007$), con una mediana 4 veces superior. Asimismo, los valores para sueros negativos fueron mayores en mujeres ($p=0.0029$), con una mediana 2 veces superior. Resultados similares a estos últimos se observaron para los sueros del grupo reactivos ($p<0.0001$). Por otro lado, los sueros de hombres positivos mostraron títulos IgG mayores a los negativos y reactivos (ambos con $p<0.00001$), con una mediana 8 y 16 veces superior, respectivamente. Sin embargo, la comparación de títulos IgG entre las 3 categorías de mujeres no mostró diferencias significativas. Estos datos sugieren que la respuesta inducida de tipo IgG anti-leptospira es de menor intensidad en mujeres que en hombres. Las mujeres presentan un mejor perfil inmunológico previo al contacto con este agente, lo que podría resultar en una mayor eficacia intrínseca en su respuesta anti-leptospira. Para confirmar esta hipótesis restaría analizar la actividad bactericida de los diferentes sueros, así como profundizar en la caracterización de otros isotipos/subclases de anticuerpos anti-leptospira en los grupos en estudio.

Financing: CSIC- Vinculación Universidad - Sociedad y Producción

Caracterización fenotípica-genotípica y detección del gen FKS2 de *Candida parapsilosis sensu stricto* asociado a la susceptibilidad antifúngica

MARÍA CELINA VEDOYA VEDOYA¹, Karina Salvatierra¹, Irina Klekailo¹, Ernesto Velazquez¹, Mariana Vera¹
(1) Universidad Nacional de Misiones., Laboratorio de Micología "Dra. Martha G. Medvedeff, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Av. Mariano Moreno 1375, Posadas, Argentina

Durante las últimas décadas el incremento de las candidiasis invasivas ha sido constante, convirtiéndose en un importante problema de salud pública. Asimismo, la aparición de especies y cepas de *Candida* resistentes a múltiples fármacos es un motivo de preocupación en los entornos clínicos a nivel mundial y comprender los mecanismos de resistencia utilizados contra los fármacos antimicóticos es imprescindible para el tratamiento del paciente. Las equinocandinas son un nuevo grupo de antifúngicos que se recomiendan como terapia de primera línea para la candidiasis invasiva. El principal mecanismo de resistencia adquirida frente a estos fármacos se atribuye a mutaciones en las regiones hot spot de los genes FKS, que codifican la fracción catalítica (fksp) del complejo enzimático β -(1,3)-D-glucano sintetasa, el blanco de las equinocandinas. El complejo *C. parapsilosis* ha emergido como uno de los principales agentes causales de candidemia y está formado por tres especies genéticamente relacionadas: *C. parapsilosis sensu stricto* (s.s.), *Candida orthopsilosis* y *Candida metapsilosis*. De las tres, *C. parapsilosis* s.s. es la más relevante desde el punto de vista epidemiológico, por ser la especie que se aísla con mayor frecuencia de muestras clínicas y la que presenta menor sensibilidad a antifúngicos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar fenotípica y genotípicamente cepas de *C. parapsilosis* s.s. dentro del complejo de especies *C. parapsilosis*, provenientes de aislamientos clínicos disponibles en el cepario de la cátedra de Micología de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones, y detectar las regiones hot spot del gen FKS2. Mediante el empleo de técnicas microbiológicas clásicas, se consiguió caracterizar fenotípicamente las cepas pertenecientes al complejo *C. parapsilosis* de acuerdo a la macro y micromorfología de las colonias. La amplificación de la región ITS1 – 5.8S – ITS2, su secuenciación y el análisis de las secuencias obtenidas mediante herramientas bioinformáticas, permitió la identificación molecular de la especie *C. parapsilosis* s.s. y la construcción de un árbol filogenético con las cepas bajo estudio. Finalmente, se logró poner a punto el protocolo de PCR para la amplificación de las regiones HS1 y HS2 del gen FKS2 en cepas de *C. parapsilosis* s. s., de interés por ser blancos potenciales para la adquisición de mutaciones que conducen al desarrollo de resistencia a equinocandinas. La importancia de este trabajo radica en que la caracterización fenotípica y genotípica de *C. parapsilosis* s.s., en aislamientos clínicos, y el desarrollo de un protocolo para la detección de las regiones hot spot del gen FKS2, permitirán monitorear la emergencia de mutaciones asociadas a resistencia a equinocandinas, para así contribuir a la vigilancia epidemiológica de las candidemias de la región. Palabras claves: *Candida parapsilosis sensu stricto*, equinocandinas, gen FKS2

VIGILANCIA GENOMICA DE SARS-CoV-2 EN PARAGUAY REVELA IMPACTO DE LA VARIANTE DE PREOCUPACIÓN GAMMA EN SALUD PÚBLICA

Cynthia Vazquez¹, Shirley Villalba¹, Andrea Gómez de la Fuente¹, Sandra Gonzalez¹, Juan Torales¹, María José Ortega¹, María Liz Gamarra¹, María Liz Bobadilla¹, Lizzie Aquino¹, Guillermo Sequera², Paola Resende³, Fernando Motta³, Marilda Siqueira³, Luiz Carlos Alcantara⁴, Marta Giovanetti⁴, Flavia Aburjaile⁵, Juliana Leite⁶, Leticia Franco⁶, Jairo Mendez-Rico⁶

(1) Laboratorio Central de Salud Publica, Asuncion, Paraguay

(2) Dirección General de Vigilancia de la Salud, Asunción, Paraguay

(3) Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo, Rio de Janeiro, Brasil

(4) Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de Flavivírus, Rio de Janeiro, Brasil

(5) Universidade Federal de Minas Gerais, Laboratório de Genética Celular e Molecular, Belo Horizonte, Brasil

(6) Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud Washington, DC, Departamento de Emergencias en Salud, Sistema Comando de Incidentes-COVID-19, Rio de Janeiro, Brasil

La Vigilancia Genómica del SARS-CoV-2 es fundamental para comprender los patrones evolutivos y de dispersión del virus, detectar tendencias de cambio en la variabilidad, y para la detección temprana de variantes con potencial impacto en Salud Pública. El Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP) integra la red de Vigilancia Genómica del SARS-CoV-2 de las Américas, que tiene como objetivo fortalecer la vigilancia genómica de COVID-19 en la región, para la disposición oportuna de datos genómicos de los países. Reportamos aquí los resultados de la Vigilancia Genómica de SARS-CoV-2 en Paraguay, entre marzo 2020 y julio 2021. Métodos: 270 muestras positivas para SARS-CoV-2 en LCSP entre mayo 2020 y abril 2021, fueron seleccionadas según criterios virológicos y de representatividad, y enviadas a centros de referencia para secuenciación de genoma completo: Fiocruz-Río de Janeiro-Brasil, LACEN-Minas Gerais-Brasil, y CDC-Atlanta-USA. En 1378 muestras obtenidas entre diciembre 2020 y julio 2021, LCSP realizó un tamizaje mediante RT-qPCR (Naveca F. 2021), que detecta delecciones comunes a las variantes de preocupación (VOC) Alpha, Beta y Gamma, en las posiciones 106 a 108 del genoma viral. Un grupo de 114 muestras positivas para estas delecciones, fueron sometidas a RT-qPCR (Biosearch Technologies) para las mutaciones N501Y, K417N y K417T que identifica de manera preliminar las VOC alpha, beta y gamma. Los resultados fueron cotejados con datos de laboratorio y epidemiológicos obtenidos del LCSP y del Ministerio de Salud, incluyendo confirmados COVID-19, muertes, y valores de Ct en muestras positivas. Resultados: se han obtenido 252 genomas completos de SARS-CoV-2 de muestras provenientes de 12 regiones sanitarias del país. Entre mayo-2020 y abril-2021, fue identificada la circulación de 18 variantes de SARS-CoV-2, incluyendo la VOC P.1 o Gamma, y la variante P.2 inicialmente considerada de Interés. La VOC P.1 fue identificada en el 25% (64/252) de las muestras secuenciadas y la P.2 en 28% (72/252). La variante P.1 fue encontrada en 11 de las 12 regiones estudiadas. La proporción de VOC en las muestras analizadas varió de 0,8% en enero-2021, a más del 90% desde mayo-2021, en concordancia con el aumento de P.1 en las muestras secuenciadas correspondientes al mismo periodo. El promedio de casos confirmados de COVID-19 antes del aumento de circulación de P.1 (marzo 2020-enero 2021) fue de 12.157 por mes, mientras que desde el aumento de la proporción de P.1 (febrero-julio 2021), el promedio fue de 51.347 por mes, 4 veces más. El promedio de fallecidos de marzo 2020 a enero 2021 fue de 237/més y de febrero a julio de 2021 fue de 1921/mes, 8 veces más. El 9% de las muestras analizadas de febrero a julio 2021 presentaron un Ct < 16 en la RT-qPCR de diagnóstico, contra solo el 3% en el periodo marzo 2020-enero 2021. Conclusión: La introducción de la VOC P.1 y su rápida diseminación en el país coincidió con el aumento de casos y muertes por COVID-19. Estos resultados demuestran la necesidad de fortalecer la vigilancia genómica de SARS-CoV-2, a fin de orientar las medidas de prevención y control en forma oportuna.

Financing: Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social OPS/OMSCDC

Prevalencia de genes relacionados con la uropatogenicidad en *Proteus mirabilis* aislado de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad en el norte de Paraná, Brasil

Matheus Silva Sanches¹, Victor Hugo Montini¹, Luana Carvalho Silva¹, Bruno Henrique Dias de Oliva¹, Eliana Carolina Vespero², Sergio Paulo Dejato Rocha¹

(1) Laboratório de Bacteriologia, Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, km 380 - Campus Universitário, PR, 86057-970, Londrina, Brasil

(2) Laboratório de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Av. Robert Koch, 60 - Operária, Londrina - PR, 86038-440, Londrina, Brasil

Proteus mirabilis es una enterobacteria gramnegativa, un patógeno oportunista que se encuentra en la microbiota humana. Varios informes indican que esta especie tiene la capacidad de causar diferentes tipos de infecciones, en las que las infecciones del tracto urinario son las más prevalentes en la comunidad. Este tipo de infección se define como cualquier infección que se produzca en la uretra, la vejiga, los uréteres o los riñones. Tanto las infecciones urinarias nosocomiales, la mayoría de las cuales se asocian con catéteres urinarios, como las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad (UTI-AC) tienen a *P. mirabilis* como uno de los agentes etiológicos. Este trabajo tuvo como objetivo detectar la prevalencia de genes de virulencia *mrpA*, *pmfA*, *ucaA* y *atfA* (fimbrias), *zapA* y *ptA* (proteasas), *hpmA* y *hlyA* (hemolisinas) y *ireA* (receptor de sideróforo) en *P. mirabilis* causantes de ITU de la urocultura. Los aislados de UTI adquiridos en la comunidad se seleccionaron exclusivamente de urocultivo con ≥ 105 unidades formadoras de colonias (UFC) y se identificaron utilizando el equipo del sistema Vitek® 2 Compact (BioMérieux, Marcy-l'Etoile, Francia). El material genético utilizado se extrajo de la ebullición y se sometió a una técnica de reacción en cadena de la polimerasa para detectar la presencia de los genes de virulencia *mrpA*, *pmfA*, *ucaA*, *atfA*, *zapA*, *ptA*, *hpmA*, *hlyA* y *ireA*. En total, se aislaron 200 cepas de *P. mirabilis*, de las cuales se detectaron los genes *mrpA*, *pmfA*, *zapA* e *ireA* en todas las cepas (100%), *ucaA* en 170 (85%), *atfA* en 198 (99%), *ptA* en 199 (99,5%), *hpmA* en 199 (99,5%) y *hlyA* en ninguno (0%). Con la excepción de *hlyA*, todos los genes tuvieron una alta prevalencia, detectándose *mrpA*, *pmfA*, *zapA* y *ireA* en todos los aislamientos. Esto puede explicarse por sus funciones en la infección y colonización exitosa del tracto urinario por *P. mirabilis*, donde las fimbrias juegan un papel importante en la adhesión bacteriana a las células huésped, en particular las fimbrias MR/P y PMF, las proteasas en la degradación de proteínas como la inmunoglobulina A (IgA) por metaloproteasa ZapA y receptores sideróforos en la adquisición de hierro del hospedador, especialmente importante en ambientes escasos de esta molécula como en el tracto urinario. Así, con la excepción del gen *hlyA*, nuestro estudio confirmó una alta prevalencia de los principales genes de virulencia relacionados con la uropatogenicidad de *P. mirabilis* aislado de orina de personas con UTI-AC.

Financing: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)

OPTIMIZACIÓN DE PCR CONVENCIONAL PARA LA AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN LCR Y EL GEN E6 DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO TIPO 16 (VPH16).

Pamela Esther Mongelós Dacunte¹, Iara Magaly Martínez Pereira², Adriana Beatriz Valenzuela Cáceres¹, Natalia Jazmín Díaz Ferreira¹, Mabel Rocío Miranda Echagüe¹, María Alexandra Mercado Amarilla¹, Laura Patricia Mendoza Torres¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Salud Pública, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones de Ciencias de la Salud, Biología Molecular y Biotecnología, San Lorenzo, Paraguay

El cáncer de cuello uterino es el cuarto cáncer más frecuente en mujeres en el mundo. El mismo es causado por la infección persistente del virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR). EL VPH 16 se encuentra presente en aproximadamente el 60% de los casos de cáncer de cuello uterino a nivel mundial. En Paraguay el VPH 16 es el más frecuente tanto en mujeres con cáncer de cuello uterino, así como también en mujeres con y sin lesión de cuello uterino. Las variantes de VPH 16, a la fecha se clasifican en, 4 linajes y 9 sublinajes. Linaje A, que incluye a los sublinajes A1, A2, A3 (anteriormente conocidas como europeas) y A4 (asiática). Linaje B, sublinajes B1 (Afr1a) and B2 (Afr1b). Linaje C (africana-2). Linaje D, sublinajes D1 (norteamericana, NA1), D2 (asiático-americana, AA2) y D3 (asiático-americana, AA1). La secuenciación de la región LCR se utiliza con frecuencia para clasificar la diversidad intra-típica y los linajes de las variantes, debido a que esta región es la menos conservada y es la que mayor diferencia presenta en su secuencia de nucleótidos entre los diferentes genomas de VPH. La secuenciación completa del gen E6 junto con la región LCR es utilizada a fin de que las mismas sean comparables con la clasificación de variantes en base a la secuenciación completa del genoma del VPH 16. Por ello, el objetivo fue optimizar dos PCRs convencionales a fin de amplificar la región no codificante LCR y el gen E6. Para ello se utilizaron muestras positivas para HPV 16, y se utilizaron cebadores capaces de amplificar la región LCR y el gen E6 de las diferentes variantes del VPH 16. Se probaron las reacciones a diferentes concentraciones de MgCl₂, así como también de cebadores y a diferentes temperaturas de alineamientos. Para la amplificación de la región LCR y el gen E6 del VPH 16, se observaron mejores resultados a una temperatura de alineamiento de 57°C y 50°C, respectivamente. La concentración de MgCl₂ utilizada en ambas reacciones fue de 1,5mM, la de dNTP 0,2mM y la de cebadores 0,2uM, teniendo en cuenta las recomendaciones del fabricante de la enzima ADN polimerasa utilizada. La estandarización de las reacciones más arriba citadas servirá para amplificar la región LCR y el gen E6 del VPH16, pudiendo así determinar las variantes secuenciando ambas regiones y posteriormente evaluar la funcionalidad y la actividad transcripcional de la región no codificante LCR a fin de relacionarla con la patogénesis cervical, considerando que existe evidencia respecto a los diferentes linajes y su capacidad de patogénesis cervical.

Financing: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Proyecto Código: PINV 18 896)

Epidemiología de las infecciones por *Staphylococcus aureus* en hospitales de la provincia de Misiones, Argentina.

Cristina Gonzalez², Lorena Leguizamón³, Ana Maria Miranda⁴, Viviana Villalba^{2,5}, Mónica Martínez¹, Adriana Barboza¹, Sandra Grenon¹, Marta Mollerach⁶, **Martha Helena von Specht**¹

(1) Universidad Nacional de Misiones., Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Av. Mariano Moreno 1375, Posadas, Misiones, Argentina

(2) Hospital SAMIC Oberá, Laboratorio Bacteriología, Av. Pincen s/n cp 3300, Oberá Misiones, Argentina

(3) Hospital Provincial de Pediatría "Dr. F Barreyro", Laboratorio Bacteriología, Av. Mariano Moreno 110, Posadas Misiones, Argentina

(4) Hospital SAMIC Eldorado, Laboratorio Bacteriología, Eldorado, Misiones, Argentina

(5) Laboratorio de Alta Complejidad de Misiones (Hosp. Escuela de Agudos; Hospital Materno Neonatal Parque de la Salud), Bacteriología, Posadas, Misiones, Argentina

(6) Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junín 954, C1113 AAD,, Buenos Aires, Argentina

Introducción y objetivos: *Staphylococcus aureus* sigue siendo un problema de salud pública a pesar de las mejoras en políticas de salud y disponibilidad de potentes antimicrobianos. **Objetivos.** Conocer las características epidemiológicas y microbiológicas de *S. aureus* causantes de infecciones en pacientes de diferentes edades y regiones de Misiones. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio descriptivo transversal multicéntrico entre el 1/1/19 al 31/12/20 que incluyó todos los pacientes internados con infección por *S. aureus* documentada en los laboratorios de 5 hospitales nivel III de la Provincia de Misiones. Los aislamientos se detectaron mediante técnicas microbiológicas convencionales y la sensibilidad a los antimicrobianos conforme al Clinical and Laboratory Standards Institute. **Resultados:** Se registraron 1252 infecciones, 689(55%) en 2019 y 563(45%) en 2020. El 62,7% (785) de los pacientes era > 15 años (15-93 años), el 35,9% (450) pediátricos (1mes - 14 años) y el 1% (13) neonatos. Los pacientes estaban internados en salas de cuidados mínimos e intermedios: 44,8% (559); cuidados críticos: 385 pacientes (30,8%); Emergencia: 209 (16,7%); obstetricia 83 (6,7%) y 12 pacientes (1%) en sala de Hemodiálisis. Fueron resistentes a meticilina (SAMR) 847 aislamientos (67,7%). Se observó una disminución proporcional de SAMR del 70,2% (484) en 2019 al 64,5% (363) en 2020 ($p=0,030$). El 57,6% (721) de los pacientes eran varones, entre estos el 63,3% (471) de las infecciones fueron debidas a SAMR y entre las mujeres 70,8% (375, $p=0,043$). SAMR se detectó en el 63,3% (497) de los pacientes adultos, el 75,3% (339) de los pediátricos y el 53,8% (7) de los neonatos (adulto/pediátrico $p=0,001$, adulto/neonato $p=0,483$, pediátrico/neonato $p=0,079$). El servicio con mayor porcentaje de SAMR fue Obstetricia (78,3%; 65). ($p=0,042$). Los principales diagnósticos fueron infecciones de piel y partes blandas (43,3%; 542), bacteriemias (33,6%; 421), infección osteoarticular (5,6%; 70), Infección de sitio quirúrgico (5,5%; 69). Se documentaron 14 meningitis, 9 con bacteriemia; seis de estas en pediatría. La no sensibilidad a eritromicina (ERI) fue del 25,8% (323; R:320, I:3), gentamicina (GEN) 16,9% (205; R:192), clindamicina (CLIN) 13,9% (174; R:172, I:2), ciprofloxacina (CIP) 5% (62; R:52, I:10), I:13), rifampicina (RIF) 3,6% (30; R:17, I:3) y TMS del 0,46%. No se detectó resistencia a glucopéptidos. El 26,1% (327) de los aislamientos presentó algún fenotipo de resistencia a macrólidos: M, el 46,5% (152); MLSB inducible el 42,5% (139), MLSB constitutiva el 9,8% (32) y 4 aislamientos fenotipo L (1,2%). Los patrones de resistencia (PR) mostraron variabilidad, con predominio del PR SAMR sin resistencia acompañante (43%), seguido de SAMS (17,4%; sin resistencia a otros antimicrobianos) y SAMR resistente a GEN (8,1%). **Conclusiones:** SAMR continúa siendo prevalente en la provincia de Misiones aunque disminuyó un 8,12%, en 2020 en relación a SAMS. Entre los SAMR se observó mayor proporción de resistencia a GEN que a ERI. Continúan siendo opciones terapéuticas para el tratamiento empírico frente a *S. aureus*: TMS, CLI, RIF, CIP y glucopéptidos.

Financing: Universidad Nacional de Misiones. Proyecto Marco Acreditado Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales.

Metabolitos microbianos con actividad sobre biofilms fúngicos

María Sofía Raffaelli^{1,2}, Ruby Valadez¹, Eduardo Abreo³, Nora Altier³, Álvaro Vázquez², Silvana Alborés¹

(1) Facultad de Química, UdelaR, Departamento de Biociencias, Área de Microbiología, Montevideo, Uruguay

(2) Facultad de Química, UdelaR, Departamento de Química Orgánica, Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales, Montevideo, Uruguay

(3) Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Laboratorio de Bioproducción, Las Brujas, Canelones, Uruguay

Las enfermedades infecciosas son aún una causa de importante preocupación en salud pública, a pesar de los numerosos tratamientos existentes para combatirlas. Esto se debe, entre otros motivos, a la resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos existentes. Un mecanismo importante de resistencia es la formación de biofilms microbianos. Los microorganismos son capaces de organizarse en comunidades, lo que les confiere capacidades particulares de resistencia, tanto a antimicrobianos como al sistema inmune del hospedero. Se estima que la mayoría de los microorganismos en la naturaleza se encuentran en forma de biofilms. En el caso de las infecciones fúngicas, las levaduras del género *Candida* son unas de las especies más relevantes, provocando infecciones cutáneas, vaginales y bucofaríngeas, con particular prevalencia en individuos inmunodeprimidos y en personas inmunocompetentes con implantes o dispositivos médicos internos. Estas levaduras son capaces de formar biofilms y se ha observado una alta resistencia de estos a antimicrobianos conocidos. Para combatir las enfermedades infecciosas, entonces, es necesario buscar nuevas moléculas activas que puedan interferir con la formación de estas comunidades, ya sea eliminándolas o permitiendo la acción de los antimicrobianos ya conocidos. Para buscar estas moléculas, pueden utilizarse productos naturales, que han sido históricamente una importante fuente de moléculas antimicrobianas, particularmente las moléculas provenientes de microorganismos. En este trabajo, se utiliza la biodiversidad natural del suelo uruguayo para obtener metabolitos bacterianos que se analizarán por su capacidad de inhibir biofilms de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*. Para esto, se realizaron extractos de metabolitos extracelulares de bacterias de suelo utilizando acetato de etilo como solvente de extracción. Estos extractos se utilizaron posteriormente para análisis de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Inhibitoria Mínima de Biofilm, usando la técnica de microdilución en microplacas. Varios de los extractos fueron capaces de inhibir la formación de biofilms de las dos levaduras evaluadas, incluso a concentraciones subinhibitorias para células planctónicas. Esto indica la presencia de, al menos, una molécula que pueda ser utilizada para evitar la formación de biofilms, lo cual puede tener interesantes aplicaciones en dispositivos médicos e implantes. Además, estos mismos extractos podrían tener una actividad sobre biofilms ya formados, lo cual puede ser un acercamiento a una nueva terapia para este tipo de infecciones resistentes.

Financing: Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas Comisión Académica de Posgrado, Universidad de la República

Prevalencia y perfil antimicrobiano de *Shigella* spp. causantes de enfermedad diarreica aguda en un hospital pediátrico de Misiones, Argentina: estudio de 4 años.

Sandra Grenon¹, Lorena Leguizamón², Myriam García¹, Marcelo Salvi Grabulosa¹, **Martha Helena von Specht¹**
(1) Universidad Nacional de Misiones, Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Av. Mariano Moreno 1375, Posadas, Misiones, Argentina
(2) Hospital Provincial de Pediatría "Dr. F. Barreyro"; Laboratorio Bacteriología, Av. Mariano Moreno 110, Posadas Misiones, Argentina

INTRODUCCION: En Argentina, las diarreas agudas constituyen entre el 60 y el 80% del motivo de consultas pediátricas en los servicios de salud. Alrededor de 1.200.000 casos cada año son notificados en los hospitales, y señalan a *Shigella* como el principal agente etiológico, con variaciones en las especies y el perfil antimicrobiano según el área geográfica.**OBJETIVO:** Se abordó el presente trabajo con el objetivo de evaluar la presencia y características microbiológicas de *Shigella* en niños con enfermedad diarreica aguda, atendidos en el Hospital Pediátrico de Posadas, Misiones, Argentina entre enero de 2016 y diciembre de 2019.**MATERIALES Y METODOS:** Se incluyeron todas las diarreas estudiadas en el Laboratorio de Bacteriología durante el período. Las muestras de materia fecal y los aislamientos se procesaron conforme a procedimientos microbiológicos estandarizados. El seroagrupamiento se realizó con antisueros poliespecíficos y monoespecíficos provistos por el INEI-ANLIS "Dr. Malbrán". La sensibilidad a los antimicrobianos se determinó por técnica de difusión según normas Clinical and Laboratory Standards Institute. Se consideraron las siguientes grupos etarios: Lactantes: menor o igual a 2 años, Preescolar: entre 3-5 años, Escolar: entre 5- 14 años.**RESULTADOS:** Durante el período de estudio se procesaron 2.128 muestra de materia fecal y se registraron 106 (5%) aislamientos de *Shigella* spp., con mayor frecuencia en los meses cálidos: verano (54,5%), otoño (21,8 %) y primavera (15,8 %). Se registraron dos especies: *S. flexneri* (63; 60,58%), *S. sonnei* (36; 34,62%). No se observaron casos de *S. dysenteriae*, ni *S. boydii*. Los serotipo de *S. flexneri* detectados fueron 02(54), 03(3), AA479(2) y 01(1). La media de edad de los pacientes fue de 4,2 años (1,2 meses- 11 años). Los niños menores de 5 años fueron los más afectados (70 %). El 7,7% de los pacientes debieron ser internados para su tratamiento y no se observó relación estadísticamente significativa con el grupo de edades. *S. flexneri* predominó marcadamente en los lactantes (42,9% vs 27,7%) y *S. sonnei* en escolares (27 vs 42,9%). Entre los pre-escolares se recuperó en frecuencias cercanas ambas especies (30,1 vs 31,9%). El 72,7% de los aislamientos fue resistente a ampicilina (AMP) y el 58,1% a trimetoprima/sulfametoxazol (TMS). El 97% de los aislamientos fueron sensibles a furazolidona, cefpodoxima y quinolonas fluoradas. *S. flexneri* presento mayor resistencia a AMP (78,7%), que *S. sonnei* (61,8%), y *S. sonnei* mostró mayor resistencia que *S. flexneri* frente a TMS (80,6% vs. 44,8%, respectivamente, $p < 0,05$). Detectamos 6 fenotipos de sensibilidad antimicrobianas diferentes entre los 77 aislamientos en los que se ensayaron la totalidad de las drogas. Trece cepas (16,8%) fueron sensibles a todos los antibioticos probados. El 29,8% de las cepas presentó resistencia a un antimicrobiano, 50,6% a dos, y solo dos aislamientos (2,6%) fueron multirresistentes.**CONCLUSIONES:** *S. flexneri* 02 fue la especie predominante El porcentaje de resistencia AMP y TMS fue marcadamente elevado. En nuestro hospital, furozolidona continúa siendo una buena opción terapéutica para el tratamiento empírico de Shigellosis en pacientes ambulatorios.

Financing: Universidad Nacional de Misiones, Proyecto marco acreditado FCEQyN.

Frecuencia de detección de patógenos bacterianos causantes de infecciones del Sistema Nervioso Central en pacientes del Hospital de clínicas de julio del 2019 a enero del 2021 por PCR múltiple

Rogelio Daniel González Cardozo¹, Gladys Velázquez¹, Ana Cuevas¹, Patricia Almada¹, Myrian Rivas Kise¹, Mirna Aguero¹, Marcela Laconich¹, Crismilda Gómez¹, Carlos Méndez¹, Juana Ortellado de Canese¹

(1) Laboratorio Central del Hospital de Clínicas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Médicas- Universidad Nacional de Asunción, Av. Mcal. López e/Cruzada de la Amistad- Campus de la UNA, San Lorenzo, Paraguay

Las pruebas exhaustivas de líquido cefalorraquídeo que incluyen tinción de Gram, cultivo, detección de antígeno, junto con análisis químicos y celulares; pueden carecer de sensibilidad o especificidad, pueden tomar varios días y requieren un volumen significativo para un análisis completo. Las infecciones del Sistema Nervioso Central (SNC); en especial las meningoencefalitis; son urgencias infectológicas. Con el avance de la biología molecular en el diagnóstico de las enfermedades del sistema nervioso central, se han desarrollado nuevas tecnologías como la PCR Múltiple logrando un diagnóstico rápido y preciso. El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de patógenos bacterianos detectados por PCR múltiple en pacientes con sospecha de infecciones del SNC como pueden ser meningitis o encefalitis del Hospital de Clínicas de julio 2019 a enero 2021. Se realizó un estudio observacional descriptivo de corte transversal, a partir de los resultados emitidos por el panel de ME (meningitis) equipo FilmArray. De los 231 resultados analizados se encontró una positividad de 3,90% de etiología bacteriana. En el caso de detección de material genético bacteriano 4 casos de *Streptococcus pneumoniae*, 3 casos de *Escherichia coli* K1, 1 caso de *Haemophilus influenzae* y 1 caso de *Neisseria meningitidis*. Además, solamente el 11 % de las muestras positivas se pudieron obtener crecimiento en medios de cultivo y el 0,43% del total de las muestras dieron negativo para el panel de meningitis y se obtuvo crecimiento bacteriano en medios de cultivo. Por lo tanto, debe tenerse en cuenta que el panel FilmArray ME representa una prueba complementaria en el laboratorio de microbiología en lugar de una prueba de reemplazo.

Minimum Inhibitory Concentration of Fluconazole and Itraconazole in *Candida* sp. by Fourier Transform Infrared Spectroscopy

Daiane Heidrich^{1,2}, Fernanda Fensterseifer³, Clairton Santos¹, Amanda Carvalho Ribeiro⁴, Alessandra Koehler^{4,5}, Danielle Machado Pagani^{4,6}, Maria Lúcia Scroferneker^{4,5}, Valeriano Antonio Corbellini⁷

(1) Universidade do Vale do Taquari - Univates, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

(2) Universidade do Vale do Taquari - Univates, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

(3) Universidade do Vale do Taquari, Biomedicina, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

(4) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Rua Sarmento Leite, 500, CEP: 90050-170, Porto Alegre, Brazil

(5) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Rua Ramiro Barcelos, 2400, CEP: 90035-003, Porto Alegre, Brasil

(6) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Rua Sarmento Leite, 500, CEP: 90050-170, Porto Alegre, Brazil

(7) Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC, Departamento de Ciências, Humanidades e Educação, Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde e Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental, Avenida Independência, 2293, CEP: 96815-900, Santa Cruz do Sul, Brazil

One of the most prevalent fungi that cause cutaneous mycoses is yeast of the *Candida* genus. Among the most used systemic treatments to combat these infections are fluconazole and itraconazole. The resistance of *Candida* sp. against these antifungals is frequent, which highlights the importance of carrying out susceptibility tests to determine the appropriate treatment. However, these tests require qualified professionals and require time, in addition to the cost of necessary materials. In this sense, new technologies are being used in research to make them feasible in clinical practice, such as Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR), enabling the proposition of reliable, accessible and fast susceptibility models. Thus, the objective of this work was to propose models for determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of itraconazole and fluconazole in *Candida* sp. by FTIR. For this, the MIC of 40 *Candida* sp. from human skin and nail lesions and five reference strains following the Clinical and Laboratory Standard Institute protocol M27-Ed.4. The spectra of the isolates were obtained by Total Attenuated Reflection (ATR)/ FTIR from the isolates grown and dried on dextroused Sabouraud agar. The Minimum Squared Partial Regression with Orthogonal Signal Correction (OPLS-DA) was used to predict the MIC. Resistance to fluconazole was evidenced in 38.3% of the samples tested (MIC \geq 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$), and 25.5% had MIC \geq 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for itraconazole, indicating the presence of a resistance mechanism of these isolates against itraconazole. There were performed three models of MIC determination with low roots means square error of cross-validation (RMSECV): one for fluconazole MIC determination, for MICs range 0.25 to 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (RMSECV = 0.00912 $\mu\text{g}/\text{mL}$); and two for itraconazole MIC determination, one for MICs range 0.0313 to 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (RMSECV = 0.0016 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and other for MICs range 0.25 to 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (RMSECV = 0.0159 $\mu\text{g}/\text{mL}$). All coefficients of determination (R^2) obtained in each modeling were higher than 0.999, confirming a high correlation of the MICs obtained in the susceptibility test with those predicted using the FTIR spectra. Therefore, ATR/FTIR proved to be a promising alternative methodology for use in clinical practice to determine the susceptibility of *Candida* sp. opposite itraconazole and fluconazole.

Financing: Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).Univates.

Asociación entre cIAP-2 y Virus Papiloma Humano de alto riesgo en cáncer de orofaringe

Carolina Oliva Guerrero^{1,2}, Diego Carrillo Beltrán¹, Iván Gallegos Mendez³, Paul Boettiger Bonnefoy², Francisco Aguayo González¹

(1) Universidad de Chile, Departamento de Virología, Facultad de Medicina, Independencia 1027, Santiago, Chile

(2) Hospital Clínico Universidad de Chile, Otorrinolaringología, Dr. Carlos Lorca Tobar 999, Santiago, Chile

(3) Hospital Clínico Universidad de Chile, Anatomía Patológica, Dr. Carlos Lorca Tobar 999, Santiago, Chile

Introducción: El Virus Papiloma Humano (VPH) es el principal causal del aumento de incidencia de carcinoma de orofaringe en los países desarrollados. Una de las estrategias mediante la cual VPH logra evadir la apoptosis es a través de la expresión de la proteína inhibidora de la apoptosis celular 2 (cIAP-2). En cultivos celulares se ha observado que la expresión de las oncoproteínas E6 y E7 de VPH de alto riesgo se relacionan a un aumento de esta proteína confiriendo resistencia a la apoptosis, sin embargo, no se ha evaluado esta asociación en muestras tumorales de orofaringe. **Metodología:** Se realizó un estudio retrospectivo analítico descriptivo de muestras tumorales de orofaringe de los últimos 10 años en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Se realizó inmunohistoquímica (IHQ) para p16, Reacción de polimerasa en cadena (PCR) y genotipificación mediante secuenciación de fragmento de L1. Además, se analizaron los transcritos de E6 y E7 mediante transcriptase-reverse PCR. Finalmente, se realizó IHQ y RT-PCR para cIAP-2. Este proyecto cuenta con autorización del comité de ética de nuestro hospital. **Resultados:** Se recopiló un total de 49 muestras, la relación mujer: hombre fue superior a 1:2, con una edad promedio de 62,9 años. El 58,3% fue positiva para p16 y 63,3% para VPH. De aquellas VPH positivas, el 74% (33) corresponde a VPH16, seguido de VPH33 con 6,48% (2). 54,2% de los carcinomas orofaríngeos fueron positivos para IHQ de cIAP-2, con alta expresión de esta proteína según RT-PCR en aquellas muestras VPH positivas. Mediante χ^2 pudimos establecer una asociación positiva entre la presencia de cIAP2 y VPH de alto riesgo (p16, DNA viral y transcritos E6 y E7), siendo más significativa la relación entre cIAP2 y DNA de VPH en el tejido tumoral. **Conclusión:** Mediante este estudio se demuestra una asociación positiva entre cIAP-2 y la presencia de VPH de alto riesgo en muestras de carcinomas de orofaringe. Este es el primer estudio que establece esta relación en orofaringe, sitio en el cual el VPH no solo es agente causal, sino que también presenta importancia en manejo y pronóstico.

Financing: - Fondo concursable anual de la Sociedad Chilena de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello-Fondecyt Regular 1161219 (2016-2019); Proyecto Puente ICBM (2019-2020); Conicyt-Fondap 15130011(2018-2023); Conicyt Ph.D. scholarship (21181116).

GENOTIPOS EMM Y FACTORES DE VIRULENCIA DE STREPTOCOCCUS PYOGENES CAUSANTES DE INFECCIONES INVASIVAS EN NIÑOS Y ADOLESCENTES PARAGUAYOS

Leticia Paniagua^{1,3}, Hazel Justice^{1,3}, Noemí Zárate², **Rosa Guillén**¹

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, UNA, Paraguay

(2) Hospital General Pediátrico "Niños de Acosta Ñu", Paraguay

(3) Ambos autores han colaborado de manera equitativa con el trabajo

Introducción: *S. pyogenes* es el agente causal de una gran variedad de patologías en el ser humano, cuya invasividad y severidad está relacionada con la producción de múltiples exotoxinas por parte de este patógeno. La variabilidad genética de los clones circulantes puede ser caracterizada mediante la secuenciación de regiones variables del gen que codifica para la proteína M. Presentamos los resultados preliminares con respecto a los factores de virulencia y la tipificación del gen emm de cepas de *S. pyogenes* aisladas de niños y adolescentes en Hospital General Pediátrico "Niños De Acosta Ñu" de Paraguay desde 2016 al 2020. **Métodos:** Fueron incluidos 10 aislados de *S. pyogenes* provenientes de infecciones invasivas. Los genes codificantes para los factores de virulencia *speA*, *speB*, *speC*, *speG*, *speH*, *speI*, *speJ*, *speK*, *speL*, *speM*, *ssa* y *smeZ* fueron detectados por PCR. La amplificación del gen emm se realizó por PCR, su secuenciación se realizó por el método de secuenciación de Sanger y su tipificación se realizó empleando el software online disponible para la identificación del tipo emm en el sitio oficial de la CDC. **Resultados:** La totalidad de los aislados porta al menos cuatro factores de virulencia, y el 80% de ellos incluso presenta siete o más toxinas. Los genotipos emm más frecuentes fueron emm1 y el subtipo emm1.3, representando el 60% de las muestras. Otros genotipos detectados con menor frecuencia fueron emm-2, emm-22.11, emm-25 y emm-86.1. Existe una gran variabilidad de los perfiles de virulencia observados incluso dentro de los aislados con un mismo genotipo emm, y el perfil más frecuentemente observado fue la portación simultánea de los genes *speB*, *speC*, *speG*, *speH*, *speJ*, *smeZ*. **Conclusión:** Este es el primer reporte sobre la clasificación molecular de *S. pyogenes* según la proteína M y los factores de virulencia asociados realizado en Paraguay. Los genotipos emm más frecuentes encontrados se relacionan a infecciones de mayor severidad e invasividad a nivel mundial.

Palabras clave: Streptococcus pyogenes, infecciones invasivas, virulencia, tipo emm

Financing: Este proyecto está financiado por los autores

MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL E INTERACCIÓN MICROBIANA

Monitoreo de la calidad de aire de la cocina metabólica dietética de un hospital público

Magdalena Sarmiento², **Adriana Nuñez**², Ana Acuña², Cecilia Ortíz², Eduardo Ferreira², Juliana Moura Mendes¹, Cinthia Casal-Martínez¹, Lucila González Donna³, Laura Joy³, Yadira Rocío Parra González², Gilberto Antonio Benítez Rodas¹, Andrea Alejandra Arrúa^{1,2}, Danilo Fernández Ríos²

(1) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT UNA), Campus San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, FACEN UNA, Departamento de Biotecnología, Campus San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay

(3) Instituto Nacional del Cáncer Prof. Dr. Manuel Riveros (MSPyBS), Ramal Areguá Km 16 y 1/2, Capiatá, Paraguay

Introducción La contaminación por hongos en los centros sanitarios ha sido objeto de numerosos estudios y se ha demostrado que un porcentaje de las infecciones hospitalarias son causadas por hongos, como *Candida* y varias especies de *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium*. Un lugar muy importante del hospital al que muchas veces no se le da la relevancia que le corresponde. En esta área se preparan los alimentos parenterales para los pacientes y es por esto que la limpieza es sumamente relevante. Al mismo tiempo, en la cocina se producen grandes cantidades de bioaerosoles debido al trabajo con diferentes tipos de productos, incluyendo formulaciones en polvo. **Objetivo** Monitorear la calidad del aire de una cocina metabólica dietética de un hospital a través del análisis microbiológico de los hongos presentes en el ambiente. **Metodología** La toma de muestras fue realizada mediante el muestreador de aire TRIO.BASTM DUO con la configuración de flujo 200 L/min por 5 minutos, en placas de Petri descartables de 9 cm con agar Sabouraud (AS), agar papa dextrosa (PDA) y agar Czapek (ACz) a distintas alturas (1,80 m, a 1,40 m, a 1 m, a 0,80 m y a nivel del suelo), cada muestra por sextuplicado; se tomaron datos de humedad, temperatura y cantidad de personas presentes en la cocina al momento del muestreo; seguidamente las placas con medio fueron incubadas a 25 ± 2 °C por un periodo de 5 días, posteriores a los cuales se realizó el conteo de UFC (unidades formadoras de colonias). La cantidad de UFC/m³ fue calculada mediante el uso de la fórmula $Nro. UFC/m^3 = N_c \times 1000 / 30 \times N_u$, donde: N_c = número de colonias por placa y N_u = unidades de tiempo. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el uso del paquete estadístico InfoStat, con el cual se realizó el análisis de varianza mediante la prueba de Tukey con un intervalo de confianza del 95%. **Resultados** A las diferentes alturas estudiadas no se observaron diferencias significativas entre las medias de UFC/m³. En todos los casos se superaron las 500 UFC/m³ por placa. Se observó la presencia de diferentes géneros fúngicos entre los que destacan *Cladosporium* spp. (27,27%), *Penicillium* spp. (22,73%) y *Aspergillus* spp. (18,18%). Estos hongos pueden actuar como patógenos oportunistas y comprometer la salud de los pacientes, sobre todo los inmunocomprometidos. **Conclusión** En las condiciones actuales pudo determinarse una alta carga de hongos contaminantes en la cocina metabólica estudiada independientemente de la altura a la que se colectaron las muestras. Los principales géneros presentes fueron *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*. La cocina puede tornarse un foco de dispersión de hongos patógenos en caso de que no se mantengan las medidas de higiene adecuadas y no se utilicen sistemas de descontaminación del aire en este punto crítico del hospital. El diseño de este espacio se debe adecuar a las necesidades del hospital: cantidad de pacientes, cantidad de personal en la cocina, circulación del aire, entre otros.

Financing: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT Paraguay, PROCENCIA (fondos del FEEI). Proyecto 18-513 - Evaluación de bioaerosoles fúngicos en ambientes hospitalarios mediante el análisis del microbioma por secuenciamiento del metagenoma.

Análisis metagenómico de las poblaciones bacterianas presentes en un sistema de biopurificación de plaguicidas

Claudio Lamilla¹, Bárbara Leiva³, Andrés Huenchupan², César Llafquén², Catalina Pacheco⁴, Marcela Levío³, Pamela Donoso³, María Cristina Diez⁵

(1) Universidad de La Frontera, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Universidad de La Frontera, Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(5) Universidad de La Frontera, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los sistemas de biopurificación (SBP) son utilizados para prevenir, retener y degradar derrames accidentales de plaguicidas durante su manipulación, previo a su aplicación en faenas agrícolas. El SBP está formado por una matriz orgánica o biomezcla, compuesta de suelo, turba comercial y paja de trigo en proporciones volumétricas (1:1:2). En un SBP en funcionamiento, la biomezcla posee gran variedad de microorganismos activos, principalmente bacterias y hongos, los cuales tienen cualidades únicas, debido a su contacto permanente con diferentes mezclas de plaguicidas adicionados al SBP. La secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés), permite la identificación de miles a millones de fragmentos de ADN/ARN, proveniente de diferentes matrices ambientales. La aplicación más importante de esta tecnología es la metagenómica, que consiste en conocer el perfil de las comunidades microbianas en el medio ambiente mediante su genoma. Una de las plataformas de análisis metagenómico con alta proyección en la actualidad es el Nanopore es una técnica que permite la secuenciación rápida del genoma microbiano, y como también su identificación de bacterianas de un ambiente determinado en diferentes niveles taxonómicos. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la variación de las comunidades bacterianas presentes en un sistema de biopurificación de plaguicidas mediante análisis metagenómico. La toma de las muestras se realizó en la biomezcla de un SBP de dimensiones 1m³, localizado en la Estación Experimental Fundo Maquehue, de la Universidad de La Frontera. Se colectaron muestras de la biomezcla desde los siguientes perfiles 15, 30 y 60 cm de profundidad, las muestras se tomaron en bolsas herméticas y se mantuvieron a 4° C hasta su análisis. La extracción de ADN se realizó mediante kit Powersoil DNA isolation (MoBio). La preparación de la biblioteca metagenómica se basó en amplicones del gen ARNr 16S. La amplificación del gen ARNr 16S se llevó a cabo con el kit de Barcoding 16S SQK-RAB204 de Oxford Nanopore Technologies, utilizando Mastermix LongAmp taq2X siguiendo las instrucciones proporcionadas por Oxford Nanopore Technologies. La biblioteca se preparó de acuerdo con las instrucciones del fabricante y la secuenciación se llevó a cabo en un secuenciador MinION (ONT) usando una celda de flujo R9.4. El análisis bioinformático, se realizó en Albacore 2.3.1. La asignación taxonómica se llevó a cabo utilizando Centrifuge 10.3-beta. Se realizaron gráficos y análisis de abundancia taxonómica con Pavian 0.3. Los resultados mostraron que los perfiles 15 y 30 cm tienen pocas variaciones en el nivel de abundancia de familias. Por otro lado, la familia de Proteobacteria es el grupo más abundante (60%) en las tres muestras y aumenta a los 60 cm. Firmicutes es el segundo filo más abundante en los perfiles 15 y 30 cm de profundidad, pero su número se redujo a los 60 cm (12, 10, 9 %, respectivamente). En conclusión, las comunidades microbianas presentes en este SBP, son el reflejo del movimiento del plaguicida y los metabolitos de degradación por la biomezcla, como también las condiciones de oxígeno, por lo anterior, analizar estas bacterias puede significar avances importantes desde el punto de vista biotecnológico.

Financing: Agradecimientos: Laboratorio de Biología Molecular Aplicada UFRO. Los proyectos ANID/FONDAP/15130015, FONDECYT 3190918, FONDECYT 1211738, DIUFRO DI21-2015.

Evaluation of bacterial strains with potential for bioconversion of lignocellulosic residues

Anna Carolina De Oliveira Souza^{1,2}, Maitê Bernardo Correia doa Santos¹, Érike Jhonnathan Pereira¹, Eliana Gertrudes de Macedo Lemos², Eleni Gomes¹

(1) Universidade Estadual Paulista, Bioquímica e Microbiologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Rua Cristóvão Colombo, 2265 - Jardim Nazareth, São José do Rio Preto/SP, Brasil

(2) Universidade Estadual Paulista, Tecnologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal-SP, Brasil

Lignocellulosic biomass, besides polysaccharides cellulose, hemicellulose, has an aromatic heteropolymer, the lignin, which its aromatic compounds derivatives can be used in chemical processes for obtain value added products. Ferulic acid, a compound released by lignin deconstruction, has been used to bioconversion into vanillin, vanillic acid and 4-vinylguaiacol, used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. The objective of this study was evaluating the bioconversion of ferulic acid to 4-vinylguaiacol by two *Pseudomonas* sp strains. The bacteria were cultivated in 20 mL of the liquid nutrient medium, containing 300 mg L⁻¹ of ferulic acid, incubated at 30 °C, under shaking at 150 rpm for 60 h. The microbial growth was determined by OD at 660nm and concentrations of glucose, ferulic acid and 4-vinylguaiacol determined by liquids and gas chromatography. The control consisted of the medium without ferulic acid (biotic control) and complete medium without inoculation (abiotic control). Both strains showed similar profile of 4VG formation and FA consumption: the FA concentration in the culture dropped dramatically in the first 9-12 hours of the experiment and remained low, whereas that of 4VG concentration was increasing. The concentrations were around 0.339 for both strains with 54 hours, however this concentration decrease in 60 hours mark getting around 0.246, showing similarity to the strains chosen for the tests It was concluded that *Pseudomonas* sp. Fp1-1 and *Pseudomonas* sp. S1-16 are able to produce 4-vinylguaiacol from ferulic acid.

Financing: The authors would like to acknowledge the Microbiology Graduate Program of IBILCE/UNESP Campus São José do Rio Preto and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

BACTERIAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS ASOCIADAS A MICROPLÁSTICOS PRESENTES EN LA CIÉNAGA GRANDE DE SANTA MARTA, CARIBE COLOMBIANO

Sol Saenz Arias¹, Tania Liceth Córdoba-Meza¹, Ostin Garcés-Ordóñez¹, Juan Saldarriaga-Vélez¹, Luisa F. Espinosa Díaz¹

(1) Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés –INVEMAR, Calidad Ambiental Marina, Santa Marta, Colombia

Los residuos plásticos y las aguas residuales domésticas no tratadas vertidas en los ecosistemas acuáticos costeros, afectan seriamente su calidad ambiental y representan un riesgo para la biodiversidad y los seres humanos expuestos a estos contaminantes. Los plásticos en el ambiente costero se fragmentan y generan microplásticos (partículas con tamaños <5 mm) que contienen sustancias tóxicas y proporcionan una superficie ideal para que grupos microbianos patógenos, presentes en las aguas residuales, lo colonicen y se propaguen. La Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM) es el sistema lagunar costero más grande e importante del Caribe colombiano; donde se ha identificado contaminación por residuos plásticos y presencia en el agua de microorganismos potencialmente patógenos que ingresan por los vertimientos de residuos de las poblaciones aledañas. El objetivo de este estudio fue identificar las especies bacterianas potencialmente patógenas que están asociados a los microplásticos presentes en la CGSM. En marzo de 2021 (durante la época seca) se colectaron muestras de agua con una red de 500 µm y de sedimento con una draga metálica en zonas acuicultura y pesca cercanas a centros poblados, las cuales se mantuvieron en refrigeración; 6 h después de ser colectas se examinaron bajo estereoscopio para identificar y separar los microplásticos. Los microplásticos encontrados, se enriquecieron en caldo BHI y se sembraron en agares selectivos para el aislamiento de enterobacterias y de especies de los géneros *Vibrio*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*. Las colonias aisladas se identificaron mediante pruebas bioquímicas utilizando el panel API 20E. De las 69 cepas identificadas, predominaron *Aeromonas hydrophila* (43%), *Vibrio cholerae* (12%), *V. parahaemolyticus* (5%) y *Stenotrophomonas maltophilia* (4%), especies patógenas para peces y humanos. Otras bacterias identificadas que han sido asociadas a patologías gastrointestinales y extraintestinales fueron *V. fluvialis*, *V. alginolyticus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens* y *Enterobacter cloacae*. Los resultados obtenidos confirman que los microplásticos en la CGSM, son vectores de bacterias potencialmente patógenas para peces y humanos, evidenciando que la presencia de este tipo de residuos aumenta los riesgos potenciales de brotes de enfermedades en las comunidades que dependen de los recursos que provee el complejo lagunar. Para garantizar un ambiente sano para las generaciones presentes y futuras, se requiere implementar medidas de control a los residuos plásticos y vertimientos de aguas residuales que afectan la CGSM.

Financing: Patrimonio Autónomo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, Tecnología e Innovación FRANCISCO JOSE DE CALDAS y por el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés - INVEMAR

Microbiota intestinal en pacientes con Bypass gástrico

Germán Andrés Cruz Moreno¹, Daniela Arturo Terranova², Mauricio Zuluaga², Ivo Siljic Bilicic², Jaime Viafara², Andrés Obando²

(1) Universidad Santiago de Cali, Valle del cauca, Ciencias básicas, Cra. 73 ##2a-80, Cali, Colombia

(2) Universidad del Valle, Valle del cauca, Posgrado Ciencias Biomédicas, calle 4b #36b37, Cali, Colombia

La obesidad es una de las enfermedades más recurrentes, complejas, heterogéneas y progresivas influenciada por la interacción de la genética, la epigenética, la metagenómica y el medio ambiente. Las cirugías bariátricas han emergido como una alternativa de control de la progresión de la evolución de esta comorbilidad. Dentro de las alternativas el bypass gástrico seguido de una yeyuno-yeyunostomía en Y de Roux (RYGB) han sido el proceder bariátrico más efectivo en el control de las complicaciones asociadas a la obesidad. Algunos cambios, como la elección de alimentos, el nivel de hormonas y enzimas debido a cambios anatómicos, el pH del estómago, en los ácidos biliares y la microbiota, se observan después de la cirugía bariátrica. Con el objetivo de revisar en literatura la microbiota asociada a pacientes con ByPass y Manga Gástrica, se realizó una búsqueda de bibliografía en las bases de datos PubMed y Google Scholar. Usando terminos como microbiota associated with obesity, bariatric surgery, Roux-en-Y gastric bypass, gastric bypass surgery, gut microbiome, microbiota, diet, obesity. Se encontró que la microbiota intestinal, está compuesta principalmente por bacterias anaerobias siendo los 2 más importantes los Firmicutes y Bacteroidetes que representan más del 90% de la microbiota, y poseen funciones fisiológicas, metabólicas, inmunológicas y neurales en el organismo. Los diferentes estudios de microbiota intestinal realizados tanto en modelos humanos como animales han reportado que en personas con obesidad aumentan el número de Firmicutes en detrimento de Bacteroidetes, además se ha afirmado que las dietas ricas en ácidos grasos saturados conducen al desarrollo de esteatosis hepática y obesidad, aumentando la proporción de Firmicutes / Bacteroidetes en la microbiota intestinal. Por el contrario, las dietas con una menor proporción de grasas y carbohidratos, en conjunto con la pérdida de peso corporal fomenta el aumento en la cantidad de Bacteroidetes. Se han reportado cambios significativos en la microbiota intestinal posterior a la realización de una intervención quirúrgica bariátrica; Dichos cambios pueden estar ligados a diversos factores, algunos de los cuales incluyen la elección y las preferencias alimentarias, la reducción del consumo de alimentos y la malabsorción de nutrientes. La cirugía RYGB no solo se ha reportado cambiando la composición de la microbiota sino también las funciones microbianas. Por tanto, una mayor degradación de proteínas, un aumento en las anotaciones funcionales y la utilización de ácidos grasos asociados se observan ampliamente después de la cirugía. Además, en términos de los distintos procedimientos quirúrgicos, se han informado diferentes alteraciones relacionadas con la microbiota, mientras que los cambios más profundos en la microbiota intestinal se observaron después de la cirugía de RYGB en comparación con la gastrectomía en manga o la banda gástrica ajustable. La manga gástrica se ha asociado con niveles más altos de Akkermansia, Eubacterium, Haemophilus y Blautia, mientras que la cirugía RYGB deriva en un aumento de los niveles de Veillonella, Slackia, Granucatiella y Acidaminococcus. Lo anterior indica que se necesita de un equilibrio entre diversos factores ambientales, alimenticios y la microbiota, para consecuentemente mejorar la forma de tratar a un paciente con obesidad.

Genomic and functional assessment of the aromatic catabolic potential of the model heavy metal resistant bacterium *Cupriavidus metallidurans* CH34

Roberto E. Durán¹, Pablo Alviz-Gazitua^{1,2}, Vicente Saona-Urmeneta³, Carlos Buil-Aranda³, Michael Seeger¹

(1) Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile

(2) Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Lagos, Osorno, Chile

(3) Departamento de Informática, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile

The *Cupriavidus* genus has been described as a catabolic versatile taxon for aromatic degradation, including the model degrader for chloroaromatics and 2,4-D *Cupriavidus pinatubonensis* JMP134, and the strains *Cupriavidus necator* NH9 (3-chlorobenzoate), *Cupriavidus basilensis* KF708 (biphenyl), *Cupriavidus basilensis* B-8 (lignin-derived aromatics) and *Cupriavidus nantongensis* X1 (chlorpyrifos). *Cupriavidus metallidurans* strain CH34 is a heavy metal-resistance (HMR) model bacterium isolated from the sediment of a zinc decantation factory. Strain CH34 complete genome was reported a decade ago, comprising four replicons: a chromosome (C1), a chromid (C2), and two large plasmids mainly associated to HMR (pMOL28 and pMOL30). *C. metallidurans* strains possess resistance to a broad range of heavy metals, but their aromatic catabolic capabilities have not been assessed thoroughly. The aims of this study are the characterization of the aromatic catabolic potential of *C. metallidurans* CH34 and the classification of its three chromosomally-encoded BMMs. A genomic aromatic catabolic reconstruction of strain CH34 and growth assessment on aromatic compounds were performed. Genes were identified by a best-bidirectional hit (BBH) search using the blastp tool against curated datasets. Ring-hydroxylating oxygenases and monooxygenases were identified by Hidden Markov Model (HMM) profile search using HMMER against CH34 genome. Growth was assessed in low-phosphate Tris-buffered mineral salts (LPTMS) using each aromatic compound (2 mM) as a sole carbon and energy source. CH34 genome carries 112 genes encoding enzymes of ten aromatic catabolic central pathways and nineteen peripheral pathways/reactions. Central pathways included the catechol (cat genes) and protocatechuate (pca genes) branch of the β -ketoadipate pathway; catechol meta-cleavage (tmo genes), phenylacetyl-CoA (paa genes), gallate (gal genes), homogentisate (hmg genes), hydroxyquinol (pnp genes), 2-aminobenzoyl-CoA (abm genes), benzoyl-CoA (box genes) and 3-hydroxyanthranilate (onb genes) pathways. Peripheral pathways included genes for aromatic lignin-derived compounds (ech, calA, calB, fcs, vdh and ivaAB genes), BTEX compounds (tmo, phy and tom gene clusters) and (chloro)benzoates (ben genes). Growth on chlorobenzoates (3-chlorobenzoate and 3,5-chlorobenzoate), lignin-derived aromatics (cinnamate, vanillin, vanillate) and BTEX compounds (benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes) was observed by CH34 cells, confirming part of the genomic prediction. Despite growth on some aromatic compounds (e.g., 3-hydroxybenzoate, salicylate, 3-hydroxyphenylacetate) was observed by CH34 cells, the genes of these pathways were not found by the in silico analyses, suggesting new degradation pathways in strain CH34. A phylogenetic analysis of three chromosome-encoded BMMs of strain CH34 allowed their classification as a toluene-2-monooxygenase (T2MO), a toluene monooxygenase (TMO), and a phenol hydroxylase (PH), which could be associated to the degradation of BTEX. These results indicate that strain CH34 possesses a wide range of aromatic catabolic pathways and could be a model to study the effects of heavy metals on aromatic catabolism.

Financing: This study was funded by FONDECYT 1200756 (M.S., R.E.D.), ANID PIA Anillo GAMBIO ACT172128 Chile (M.S., R.E.D.), and USM PI_M_2020_43 (C. B.-A., R.E.D., V.U.-S.) grants.

Perfil de susceptibilidad a antibióticos de *Escherichia coli* aisladas de arroyos agrícolas de la cuenca del Río Paraná margen derecha

Nancy Barrios Blanco¹, Elisa Anrig Ovelar¹, **Gabriela Sosa Benegas**²

(1) Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Campus Alto Paraná, Facultad de Ciencias de la Salud, Supercarretera Itaipu, Paraná Country Club, Hernandarias, Paraguay

(2) Entidad Binacional Itaipu, Laboratorios Ecológicos MARR.CE, División de Embalse, Supercarretera Itaipu km 16,5, Estación de Acuicultura, Hernandarias, Paraguay

Perfil de susceptibilidad a antibióticos de *Escherichia coli* aisladas de arroyos agrícolas de la cuenca del Río Paraná margen derecha Congreso Latinoamericano de Microbiología, Microbiología ambiental e interacción microbiana. Nancy Barrios Blanco¹, Elisa Anrig Ovelar¹, Gabriela Sosa Benegas² (1) Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Campus Alto Paraná, Facultad de Ciencias de la Salud, Supercarretera Itaipu, Paraná Country Club, Hernandarias, Paraguay (2) Entidad Binacional Itaipu, Laboratorios Ecológicos MARR.CE, División de Embalse, Supercarretera Itaipu km 16,5, Estación de Acuicultura, Hernandarias, Paraguay. g.sosabe@gmail.com Las aguas superficiales de la cuenca del Río Paraná reciben contaminación fecal de fuentes humanas y animales. En las microcuencas del Río Paraná margen derecha (Paraguay) más de 90% de los efluentes son vertidos sin tratamiento. De manera a determinar la presencia de fenotipos resistentes a antibióticos por contacto con efluentes, en este estudio la *Escherichia coli* fue el indicador de contaminación fecal utilizado. Se aislaron 118 cepas ambientales, de 10 arroyos agrícolas, cinco se hallan ubicados en el departamento de Alto Paraná (CYTE, ER, ITMI, IT4, IB4) y cinco en Canindeyú (IT4, AC, AG, RCAF, PY). El muestreo se realizó en aguas superficiales a 2 m de la costa, en recipientes estériles. Las muestras fueron sembradas en medio cromogénico Brilliance™ (Oxoid) y el recuento se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El perfil de susceptibilidad fue determinado por el método de difusión en discos en medio Mueller-Hinton utilizando ampicilina (AMP 10µg), gentamicina (CN 10µg), ciprofloxacina (CIP 5µg), nitrofurantoína (F 300µg), amoxicilina-ac. clavulánico (AMC 30µg) y trimetoprim-sulfametoxazol (STX 25µg). Fueron obtenidos recuentos de en todos los puntos estudiados. Hallándose el mayor recuento en el punto CYTE 2 (48.800 UFC/100mL) y el menor recuento en el punto ER (700 UFC/100mL), resultando que, el 33% y 24% de las cepas aisladas fueron resistentes a AMP y a F respectivamente, un 15% fueron resistentes a AMC, un 6% resistentes a CN y más del 90% resultaron ser sensibles a SXT y CIP.

Identificación de cianobacterias potencialmente productoras de toxinas en muestras de agua superficial

Angélica Castro¹, Cristina Romero², Mara López³, Gilberto A. Benítez Rodas⁴

(1) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Estudiante de la Carrera de Bioquímica, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, Laboratorio de Biotecnología, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

(3) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, Laboratorio de Química y Toxicología, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

(4) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, Laboratorio de Hidrobiología, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

La eutrofización de las aguas consiste en el aumento de las concentraciones de nutrientes, principalmente, de Nitrógeno y Fósforo, que llegan a esta a través de distintas fuentes contaminantes. Este proceso favorece el crecimiento y la proliferación de microorganismos no deseables, tales como, las cianobacterias. Las cianobacterias son microorganismos procariontes fotosintéticos y diazótrofos, capaces de generar floraciones en respuesta a ciertos factores ambientales como, la intensidad de la luz, la temperatura y la concentración de nutrientes, afectando considerablemente la calidad del agua en color, sabor, olor, pH y oxígeno disuelto. Además de esto, la preocupación radica en que las cianobacterias son capaces de producir y liberar metabolitos secundarios conocidos como cianotoxinas, las cuales, pueden ser neurotóxicas, hepatotóxicas o dermatotóxicas que, en casos de intoxicaciones graves en humanos y animales, podrían producir cáncer, o incluso llevar a la muerte. Por esta razón, se planteó como objetivo de esta investigación que forma parte del avance de un trabajo de tesis, determinar la concentración de cianobacterias presentes en muestras de agua superficial eutrofizadas. Los análisis se realizaron en muestras proveídas por Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT), que implementa la Norma ISO 17025 en todas sus actividades. Por lo tanto, como parte de su Política Calidad se garantiza la confidencialidad de los puntos de muestreos. Para la determinación de la concentración de cianobacterias en las muestras denominadas P1 y P2, se utilizó el Método de Utermöhl, para lo cual, las mismas fueron previamente preservadas en lugol y depositadas en tubos de 25 mL denominados cámara de sedimentación, dejándolas reposar durante 24 horas. La observación de cada cámara se realizó mediante un microscopio óptico invertido con un aumento total de 400 y 1000. Para la identificación de cianobacterias, se tuvieron en cuenta características morfológicas, obteniendo capturas de imágenes con el programa Motic Images Advanced 3.2, acoplado al microscopio óptico invertido. Para la clasificación taxonómica se utilizaron diversas claves y fuentes bibliográficas. En ambas muestras se identificaron como dominantes el género *Microcystis*, con una concentración de 4.335.471 cel/mL en la muestra P1 y 6.617.280 cel/mL en P2. Teniendo en cuenta que la Organización Mundial de Salud (OMS) establece niveles de vigilancia y alerta para la presencia de cianobacterias, y en el caso de agua para consumo humano un límite de 2.000 cel/mL (Nivel de Alerta 1), las muestras serán sometidas a análisis adicionales a través de métodos cromatográficos y test de ELISA para determinar y cuantificar cianotoxinas (microcistinas totales, microcistina-LR y saxitoxina).

Financing: Financiación: CONACYT Paraguay - INV15-217 "Cianotoxinas en las aguas superficiales eutróficas del lago Ypacaraí en diferentes periodos estacionales y su potencial efecto mutagénico", y Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT), Universidad Nacional de Asunción (UNA).

Isolamento de microrganismos associados a lavouras de café conilon com glifosato

Analyse Villanueva Gaete¹, Mariana Miranda de Abreu¹, Glacielen Ribeiro de Souza¹, Gabriela Petroceli Mota¹, Jussara Tamires de Souza Silva¹, Alessandro Coutinho Ramos², Aline Chaves Intorne^{1,3}

(1) Universidade Estadual Norte Fluminense, Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos, Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque California, Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil

(2) Universidade Vila Velha, Laboratório de Biotecnologia e Microbiologia Ambiental, Avenida Comissário José Dantas de Melo, 21 - Boa Vista II, Vila Velha - ES, Brasil

(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Laboratório de Química e Biologia, R. Antônio Barreiros, 212 - Nossa Sra. das Gracas, Volta Redonda - RJ, Brasil

O Brasil é um dos maiores produtores de café no mundo, sendo os estados de Minas Gerais, Bahia, Espírito Santo e Rondônia as principais regiões especializadas. De modo a sustentar a crescente demanda de café a nível mundial, os produtores têm realizado práticas intensivas na utilização de recursos naturais e a aplicação de insumos químicos, que acarretam a perda da fertilidade do solo natural e podem prejudicar o equilíbrio ecológico e a saúde humana. Um herbicida muito utilizado é o glifosato, especialmente no hemisfério ocidental. Embora a substância seja aprovada por órgãos reguladores em todo o mundo e seja amplamente utilizada, persistem preocupações sobre seus efeitos nos humanos e no meio ambiente. Com o intuito de evitar os riscos relacionados ao uso de pesticidas, vêm sendo conduzidas pesquisas a partir de abordagens ecológicas para diminuir a aplicação dos insumos químicos sem afetar o rendimento da produção agrícola. Vários estudos demonstram que o uso de microrganismos como bioinoculantes melhoram o crescimento e a produção das plantas através de mecanismos de assimilação de nutrientes vitais como fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo e potássio e fitoestimulação. Somado a isso, esses microrganismos também podem desempenhar um papel significativo na transformação e degradação de contaminantes metálicos e pesticidas, mesmo aqueles mais persistentes podem ser metabolizados por culturas microbianas. O objetivo deste trabalho foi isolar microrganismos associados a plantas de café conilon resistentes ao herbicida glifosato. Para isso, amostras da rizosfera de plantas de café conilon foram coletadas em pontos determinados em uma fazenda no estado de Espírito Santo que faz aplicação de glifosato. O isolamento microbiano foi realizado logo após a chegada das amostras ao laboratório. Um total de 1 g de solo foi diluído em 9 mL de solução salina (85%) e as amostras diluídas foram plaqueadas em meio DYGS (isolamento de bactéria), DBA (isolamento de fungo) e Sabouraud (isolamento de levedura). As placas foram incubadas em estufa a 30 °C por 24, 48 e 72 h, quando as colônias foram isoladas. A resistência microbiana ao glifosato foi determinada cultivando os microrganismos em meio DYGS com glifosato nas concentrações de 5 e 10 g/mL por 24 h. Seguidamente, foram cultivadas amostras em placas com meio DYGS, BDA e Sabouraud, sem glifosato, para observar o crescimento. Nos experimentos de identificação de microrganismos nas amostras de café conilon, foram contabilizados 54 isolados de fungos e 175 isolados de bactérias, totalizando 229 cepas. Já nos testes de resistência de glifosato, o crescimento microbiano foi observado principalmente nos meios Sabouraud e DYGS. Com isso, é esperado que sejam identificados no futuro isolados capazes de degradar o glifosato, contribuindo para o desenvolvimento de tecnologias de remediação dos solos contaminados e até na diminuição do uso de compostos químicos, visando a sustentabilidade das atividades agrícolas através da utilização de inoculantes promotores do crescimento vegetal.

Financing: Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER)

Análisis metagenómico de una poza hidrotermal del sistema de Lirima (Chile) para la búsqueda de nuevos biopolímeros microbianos útiles en la industria agrícola

Fabián Darío Cuadros Segura¹, Martha Hengst López², Carolina Yañez Prieto¹

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad, 330, Valparaíso, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Laboratorio de Ecología Molecular y Microbiología Aplicada, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Antofagasta, Chile

Los ecosistemas poliextremos albergan una gran cantidad de microorganismos con metabolismos únicos, novedosos y adaptados para la supervivencia a estos ambientes, convirtiéndose en centro de atención para la búsqueda de nuevos compuestos con potencial biotecnológico. Actualmente, es conocida la problemática de sequías, lo cual afecta significativamente la producción agrícola, siendo una de las industrias con mayor demanda hídrica. Debido a esto, se hace necesario investigar estrategias que permitan optimizar la producción y que, a su vez, resulten amigables con el medio ambiente. Por esta razón, este estudio se propuso analizar el metagenoma de una poza hidrotermal de Lirima ubicado en el altiplano del norte de Chile, con el fin de identificar genes ligados a posibles rutas metabólicas asociadas a la producción de exopolisacáridos (EPS) que podrían ser útiles en la mejora de la retención hídrica del suelo y en la minimización de estrés osmótico en plantas. Por medio del servicio MG-RAST, se analizó la composición de la comunidad, comparándola con individuos productores de EPS de interés biotecnológico ya reportados y además de esto, se realizó un análisis de subsistemas para buscar genes y enzimas implicadas en la síntesis de biopolímeros. Se identificó que las bacterias fueron el grupo más abundante de la comunidad microbiana (96% de las lecturas), subdividiéndose en 27 phyla siendo los Firmicutes, Proteobacteras, Chlorobia, Chloroflexi, Bacteroides y Cianobacterias los más representativos de la población. Al realizar un estudio bibliométrico y contrastarlo con lo hallado en la poza, se encontró que el 82,6% de los individuos estaban presentes en la muestra, lo cual equivale al 21,8% de las secuencias obtenidas experimentalmente, destacándose en este grupo los Firmicutes, Gammaproteobacterias, Betaproteobacterias, Alphaproteobacteria, Cianobacterias y Actinobacterias (con diferentes familias). Finalmente, se encontraron diversos genes y enzimas asociados a la síntesis de EPS clasificados en los sistemas de carbohidratos, cápsula y pared celular y respuesta a estrés, representando un 4,81%, 17,9% y 7,54% respectivamente, del total de las secuencias de cada grupo. Se destacan genes involucrados en la biosíntesis, polimerización y transporte de EPS, regulación de grupos donadores glicosílicos, metabolismo y transporte de glucanos, reguladores de grupos lipídicos usados en la polimerización y degradación de grupos glicosílicos, entre otros. Además de esto, fue posible identificar la producción de algunos osmolitos que podrían participar en la reducción de estrés osmótico en plantas. Basados en nuestros resultados, es posible concluir que dentro de las comunidades microbianas del sistema hidrotermal de Lirima existen microorganismos con metabolismos posiblemente novedosos que presentan rutas de producción de EPS quizás antes no descritas. Por esta razón, las comunidades de este ecosistema resultan ser excelentes candidatas para la búsqueda de nuevos biopolímeros derivados de microorganismos útiles en la industria agrícola.

Detection of conjugative plasmid associated with plant compartments of *Carpobrotus aequilaterus* (Magnoliopsida class)

Angela Sánchez Salazar¹, Jacquelinne Acuña², Milko Jorquera Tapia²

(1) Universidad de la Frontera, Departamento de ciencias químicas y recursos naturales, Facultad de ingeniería y ciencia, Av. Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de la Frontera, Laboratorio de Ecología Microbiana Aplicada, Ingeniería y ciencias, Av. Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile

Climate changes is affecting the diversity and distribution of plants and in consequence interactions with associated bacteria, which are pivotal for stress tolerance of plants under changing conditions. It is known that conjugative plasmids are important carriers of functional genes that drive help to plants stress or improve under different conditions. However, studies on environmental conjugal plasmids in plant-associated bacteria are scarce as well as how plasmid can improve plant tolerance. The objective of this paper was to determine by endpoint PCR the occurrence of environmental plasmids in plant compartments from *Carpobrotus aequilaterus*, which is a succulent pioneer plant widely distributed in Chile and other countries such as Australia, Mexico, USA and South Africa. For this, plasmid DNA was extracted from samples of rhizosphere, phyllosphere and endosphere of *C. aequilaterus* specimens. The screening of replicable and transferable plasmids was done by endpoint PCR using specific primer sets for incompatibility (Inc) groups of plasmids (IncP, IncN, IncQ and IncW) and visualized by agarose electrophoresis. The presence of plasmids will be confirmed by amplicon sequencing and quantified by RT-qPCR. The preliminary results suggest the occurrence of replicable and transferable environmental plasmids in the rhizosphere and endosphere from *C. aequilaterus*, particularly IncP and IncN plasmids. Differences in pattern of positive and negative PCR amplifications also suggest compartmentalization of plasmids in compartments of *C. aequilaterus*. In addition, the quantification of plasmid copies of the gene *oriT* of IncP plasmid showed significant difference between rhizosphere and endosphere suggesting bacterial communities different. Despite that our results showed the compartmentalized occurrence of replicable and transferable plasmids in *C. aequilaterus*, their abundance, diversity and role in plant-bacterial interactions under climate change scenario are still unknown so far, and it needs to be elucidated.

Financing: Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo ANID, Beca doctorado nacional. Universidad de la Frontera, dirección de postgrado. Fondecyt regular #1201386

Efecto de la Aplicación de Campo Magnético Estático Tipo Pulso y Tipo Continuo en la Composición del Biofilm en Tuberías de Agua de Mar

Carol Miranda-Ostojic¹, Génesis Serrano¹, Pablo Ferrada², Mauricio Escalona¹, Víctor Jiménez¹, María Teresa González³, Alejandro Maureira¹, Manuel Zapata¹

(1) (1) Laboratorio de Biotecnología Algal y Sustentabilidad, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Chile.

(2) (2) Centro de Desarrollo Energético Antofagasta (CDEA), Facultad de Ingeniería, Universidad de Antofagasta, Chile.

(3) (3) Instituto de Ciencias Naturales Alexander von Humboldt, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Chile.

Ante la escasez hídrica que afecta a nuestro país y al mundo, el uso del agua de mar en procesos industriales va en aumento. Sin embargo, el agua de mar como recurso hídrico trae problemas y desafíos a la industria, uno de ellos es el transporte de agua de mar hacia faenas mineras, por ejemplo, ya que en las tuberías se produce formación de biofouling de origen marino. La formación del biofouling está influenciado por el sistema de surgencia de la corriente de Humboldt, el cual es considerado uno de los sistemas más productivos del mundo. Los efectos de la formación del biofouling se traducen en una disminución importante del rendimiento de los sistemas industriales, deterioro de materiales y reducción de su vida útil. Esta problemática lleva a la industria a emplear tecnologías antifouling de naturaleza química, provocando un alto impacto ambiental. Sin duda el conocimiento adecuado de las comunidades microbianas que forman el biofouling representa un avance en el conocimiento y en la forma de prevenir su formación. Por otra parte, una forma física de controlar la formación del biofouling es el uso de Campos Magnéticos Estáticos (CME). El objetivo de este estudio es analizar la formación del biofouling en las tuberías de transporte de agua de mar, desde un punto de vista microbiológico, someténdolo a exposición de CME como perturbaciones de tipo Pulso y tipo Continuo, las cuales pueden generar cambios en la composición y diversidad de la comunidad microbiana de forma estimulante, inhibitoria o no observable. El estudio se realizó en tuberías de transporte de agua de mar de High Density Polyethylene (HDPE) con imanes de neodimio de mediana intensidad en forma de pulso y de forma permanente durante dos periodos de experimentación Otoño – Invierno (O-I) y Primavera – Verano (P-V). El biofouling se caracterizó mediante la medición de parámetros fisicoquímicos, viabilidad celular, y análisis metagenómicos para conocer la composición de la comunidad microbiana de bacterias y eucariontes presentes en las biopelículas experimentales. Los resultados no demuestran cambios significativos en los parámetros fisicoquímicos en presencia de CME. Para el caso biológico se registraron variaciones de estimulación e inhibición de viabilidad celular en CME tipo pulso y tipo continuo en ambos periodos de experimentación. La ausencia o presencia de OTUs en cada tratamiento se debe a la sensibilidad o tolerancia al CME, los cuales fueron diferentes en cada estacionalidad. La composición de bacterias y eucariontes en las biopelículas varía significativamente entre las estaciones del año y también entre los grupos controles y los grupos expuestos a CME. Además, se observa una correlación positiva en el periodo O-I con el oxígeno disuelto y en el periodo P-V con la temperatura. Este trabajo registra uno de los primeros acercamientos a los efectos del CME en comunidades microbianas marinas, aunque se observan efectos de sensibilidad e inhibición, también existe evidencia estimulante. Este comportamiento se debe a la interacción de especies presentes en la comunidad junto con los parámetros ambientales que intentan adaptarse a este hábitat perturbado.

Financing: Proyecto FONDEF ID15I10487 Programa semillero de investigación de la Universidad de Antofagasta

Bacterial exopolysaccharides from Chilean hot springs: Realms of possibilities in food industry

Aparna Banerjee^{1,2}, Aleydis Gómez², Patricio González-Faune³, Gustavo Cabrera-Barjas⁴, Rajib Bandopadhyay⁵

(1) Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad Católica del Maule, Talca 3466706, Chile

(2) Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales (CENBio), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Talca 3466706, Chile

(3) Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Talca 3466706, Chile

(4) Unidad de Desarrollo Tecnológico (UDT), Universidad de Concepción, Av. Cordillera 2634, Parque Industrial Coronel, Coronel 3349001, Chile

(5) UGC Center of Advanced Study, Department of Botany, The University of Burdwan, Bardhaman 713104, India

Microbes in extreme environment are uniquely adapted to great temperature variations by different cellular and molecular modifications, such as exopolysaccharide production, genomic changes, regulation of gene expression or production of pigments and many more. In an era of ever increasing climate change impacts, it is more important to address the extremophiles before we lose them. Extremophiles often harbour industrially important secondary metabolites like enzymes, pigments or polysaccharides that have promising industrial applicability. In the southern hemisphere, especially in Chile, polyextremophiles thrive in hot springs of the Andes Mountains. The main shared feature of these extremophiles is production exopolysaccharides (EPS) as a part of protection strategy. The thermotolerant microbes thriving in the natural, slightly acidic, volcanic hot springs of the Transitional Southern Volcanic Zone of Maule region, Chile show the presence of complex α - and β -glycosidic bonds in it, with notably high thermal stability. They are forming a complex network of EPS that additionally capable of different free radical scavenging property and emulsification of an array of vegetative oils, indicating its probable application in food industry. In conclusion, our study highlights the occurrence of highly thermostable polysaccharides that may be used as antioxidant, emulsifiers or viscosifiers in the food industry. Overall, the compositional dynamics of polyextremophiles reveals excellent potential for industrial applications.

Financing: Fondecyt Iniciación 11190325

Estructura y dinámica de un consorcio microbiano nativo, eficiente para el tratamiento de aguas residuales textiles

Maria Belen Ceretta^{1,3}, Débora Nercessian^{2,3}, Erika A. Wolski^{1,3}

(1) UNMdP-CIC, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Ambiente (INCITAA), Grupo de Ingeniería Bioquímica (GIB)

(2) UNMdP-CONICET., Instituto de Investigaciones Biológicas (IIB)

(3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Las comunidades microbianas (también denominadas consorcios) son fundamentales en múltiples procesos como el ciclado de nutrientes, la síntesis de sustancias, la biodegradación de moléculas orgánicas, por mencionar algunos. Comprender su funcionamiento resulta esencial pensando en el desarrollo de nuevas tecnologías, como la biorremediación de sitios contaminados y/o tratamiento de efluentes. En el presente trabajo se estudió la composición microbiana de un consorcio aislado de una planta de teñido del Partido de Gral. Pueyrredón (Buenos Aires, Argentina). Previamente, este consorcio demostró gran eficiencia para su aplicación en la degradación del efluente textil (ET) de dicha planta. El objetivo del presente trabajo fue analizar las variaciones en la estructura del consorcio durante la cinética de degradación del ET. Los microorganismos se identificaron por secuenciación masiva de la región variable V4 del gen de ARN ribosomal 16S (ARNr 16S) (para Archaea y Bacteria) utilizando Illumina MiSeq Next Generation Sequencer. Las muestras analizadas fueron: 1) de la cámara de inspección de la planta de teñido (denominada muestra ambiental-MA), 2) muestras tomadas a tres tiempos durante las cinéticas de degradación (0, 24 y 96 h), partiendo del pre-enriquecimiento de la MA en dos medios de cultivo: LB y PG. Para el procesamiento y análisis bioinformático de las secuencias se utilizó el software QIIME2. Para evaluar las diferencias entre la estructura de las comunidades bacterianas de las muestras, se realizó un análisis de componentes principales basado en la métrica UniFrac mediante un PERMANOVA en QIIME2. Todos los OTU identificados correspondieron al dominio Bacteria, predominando en todas las muestras el filo Proteobacteria, seguido por Firmicutes. En las MA se detectaron otros 6 filos y se observó la presencia de una gran diversidad de OTUs. Luego del pre-enriquecimiento con ambos medios de cultivo, hubo un aumento en la abundancia relativa de la clase Gammaproteobacteria y una disminución en la abundancia relativa de los OTUs restantes. Este grupo pasó de un 31.75% en la MA, a un 88.47% y 99.15% en los tiempos 0 de LB y PG respectivamente. Dentro de este grupo es que encontramos a los Aeromonadales, Enterobacteriales y Pseudomonadales para quienes se ha reportado su capacidad de degradar colorantes y otras sustancias recalcitrantes. En el análisis de componentes principales, se observa una diferenciación en la composición de la MA respecto a las demás, y un cierto agrupamiento de acuerdo al medio de cultivo utilizado en el pre-enriquecimiento. Además, se observa una menor diversidad en el consorcio crecido en LB respecto al desarrollado en PG, sin embargo estas diferencias entre las estructuras de las comunidades bacterianas no llegan a ser significativas. Esto indica que no hay una pérdida marcada de la diversidad bacteriana durante la cinética de degradación, lo cual podría deberse a que la muestra fue aislada de un sitio de vertido de ET, por lo que los microorganismos presentes ya están adaptados a este ambiente. El mantenimiento de la diversidad resulta ventajoso pensando en la conservación de la capacidad degradadora del consorcio, la cual es deseable para la aplicación continua de un tratamiento biológico.

Cianolíquenes *Peltigera* creciendo en un bosque nativo del sur de Chile adquirirían parte de su microbioma desde el ambiente

Constanza Soto silva¹, Karla Veas Mattheos¹, Matías Pezoa¹, Katerin Almendras¹, Yosbany Pérez¹, Julieta Orlando¹

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

Los líquenes son definidos clásicamente como asociaciones simbióticas mutualistas entre un hongo y uno o dos compañeros fotosintéticos, un alga verde y/o una cianobacteria. Debido al diverso microbioma asociado al talo liquénico y a la red de interacciones bióticas que se establecen entre sus componentes, los líquenes han sido redefinidos en la actualidad como complejos ecosistemas autosustentables. Se ha propuesto que las comunidades bacterianas presentes en el microbioma liquénico estarían cumpliendo funciones esenciales para el holobionte, y que algunos de estos grupos podrían ser adquiridos desde el ambiente. En este trabajo se estudió el microbioma bacteriano asociado a dos especies de cianolíquenes, *Peltigera frigida* y *Peltigera fuscopraetextata*, creciendo en un bosque nativo de lenga (*Nothofagus pumilio*) en la Isla Navarino (Región de Magallanes y de la Antártica Chilena, Chile). Las comunidades bacterianas asociadas a 3 microambientes: i) talos, ii) sustratos (suelo adyacente al talo) y iii) suelos aledaños, se caracterizaron mediante secuenciación masiva del gen 16S rRNA utilizando partidores que excluyen al cianobionte. Se infirieron variantes únicas de amplicón (ASVs) mediante la tubería de DADA2, y se definió el core microbioma como aquellas ASVs presentes en al menos 7 de las 8 réplicas de cada grupo (prevalencia ≥ 0.875). Las comunidades bacterianas asociadas a los sustratos y suelos aledaños presentaron una diversidad alfa significativamente mayor en comparación a los talos. Mientras que no se encontraron diferencias significativas al comparar los microambientes entre las dos especies de cianolíquenes. Al igual que lo reportado para otras especies de *Peltigera* en el sur de Chile, los filos bacterianos más abundantes fueron Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteriota, Bacteroidota y Planctomycetota. A nivel de género, aproximadamente el 70% de los ASVs no se logró identificar, lo que sugiere una alta novedad taxonómica en estos ambientes poco estudiados. Desde los géneros que pudieron ser identificados, se determinaron los grupos bacterianos potencialmente reclutados desde el ambiente como aquellos que fueran significativamente más abundantes en talos, en comparación a sustratos y suelos aledaños. De esta forma, se encontraron en total 13 y 12 géneros potencialmente reclutados para *P. frigida* y *P. fuscopraetextata*, respectivamente. De estos, 8 géneros fueron comunes para ambas especies de cianolíquenes (5 géneros del filo Proteobacteria, 1 de Actinobacteria y 2 de Acidobacteriota). *Bosea* y *Sphingobium* fueron significativamente más abundantes en *P. frigida* y *Friedmanniella* en *P. fuscopraetextata*. Se ha reportado que algunos de estos microorganismos participan del ciclado de nutrientes esenciales (N, C, P) y son tolerantes a estrés abiótico, funciones que serían clave para la mantención del ecosistema liquénico. Estos resultados sugieren que los sustratos y los suelos aledaños serían una posible fuente de microorganismos para el microbioma liquénico, en donde los líquenes estarían seleccionando desde el ambiente aquellos grupos mejor adaptados a las condiciones locales y que cumplirían funciones esenciales para su supervivencia en condiciones ambientales extremas como las de la Patagonia chilena.

Financing: FONDECYT 1181510

Efecto antibacteriano de colicinas sobre *Escherichia coli* O157:H7

Mauro Daniel García¹, Julia Ruiz¹, Nora Lía Padola¹, Analía Etcheverría¹

(1) Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, FCV-UNCPBA, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET-UNCPBA-CICPBA

Introducción: Las colicinas son péptidos con actividad antimicrobiana, sintetizados por *Escherichia coli*. Se producen en condiciones de estrés, como estrategia de competencia intraespecífica, al actuar sobre bacterias filogenéticamente relacionadas. Están codificadas en el genoma bacteriano o en plásmidos, actúan de diversas maneras sobre las células diana, por ejemplo, inhibiendo la replicación de ADN o despolarizando la membrana plasmática al insertarse y formar poros en ella. La actividad antibacteriana de las colicinas, las convierte en potenciales herramientas en el control de bacterias transmitidas por alimentos, como *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC). Estos patógenos son productores de enfermedades severas como la colitis hemorrágica y el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH), endémico de Argentina, afectando principalmente a niños de corta edad. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana de dos cepas de *E. coli* (24-7 y 27-4) aisladas de colon bovino e identificadas por PCR como colicinogénicas para las colicinas B, M, H47, e Ia, E7, B, respectivamente. **Métodos:** Se cultivaron las cepas colicinogénicas (col) y O157:H7 en medio Luria Bertani (LB) a 37°C en agitación por 24h (ON). Los cultivos col fueron centrifugados a 12000 rpm durante 15 min y los sobrenadantes fueron clarificados mediante filtros de jeringa de 0.22 µm. Se obtuvieron de esta manera sobrenadantes libres de células (SLC) y se probó su efecto inhibitorio, puros o en diluciones seriadas al medio, utilizando LB, colocando 100 µl de SLC en placas de 96 pocillos, sembradas con 103 UFC/ml de una cepa O157:H7. Se incubaron las placas a 37°C, se midió la densidad óptica (DO) a 495 nm a distintos tiempos; y graficó la DO495/tiempo. En paralelo, se realizaron siembras en placas de LB agar de las suspensiones bacterianas enfrentadas a las colicinas, y se incubaron a 37°C ON para obtener el recuento de viables y realizar la curva UFC/ml. Posteriormente, se extrajo el ADN de las cepas col mediante Wizard genomic DNA purification kit (PROMEGA) remitiéndose a la empresa MicrobesNG (Birmingham, Reino Unido), donde se realizó la secuenciación genómica con una cobertura de 30x. Las secuencias obtenidas fueron analizadas para el minado de colicinas mediante la plataforma BAGEL4. **Resultados:** Las curvas de crecimiento por DO y recuento en placa demostraron que una de las cepas col (27-4) posee actividad bactericida, manteniéndose en todas las diluciones empleadas; mientras que la otra (24-7) posee actividad bacteriostática que persistió en todas las diluciones, pero proporcional a la dilución empleada. La secuenciación genómica de las cepas col demostraron que estas codifican para colicinas. Se pudo confirmar la presencia de las colicinas: Ia, B, V, M y E7, codificadas por la cepa 27-4 y las colicinas: Ia, B, M, V, E1 y la microcina H47 en la cepa 24-7, identificadas previamente por PCR. **Conclusión:** Estos resultados, demuestran que las colicinas son potentes agentes inhibidores del crecimiento de *E. coli* O157:H7 y son una alternativa de posible aplicación para prevenir la contaminación bacteriana o reducir la carga de estos en alimentos.

Financing: Este trabajo fue financiado por PICT 2015-2666, CONICET y SECAT Argentina.

Evaluación de tres medios de cultivo para la determinación de la calidad del aire de dos ambientes de un hospital público especializado

Cecilia Ortíz², Ana Acuña², Magdalena Sarmiento², Adriana Nuñez², Fiorella Olazar², Eduardo Ramón Ferreira², Gilberto Antonio Benitez Rodas^{1,2}, Yadiria Rocio Parra González², Lucila González Donna³, Laura Joy Ramírez³, Danilo Fernández Rios², Andrea Alejandra Arrúa^{1,2}

(1) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas CEMIT UNA, Campus San Lorenzo, UNA, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales FACEN UNA, Campus San Lorenzo, UNA, San Lorenzo, Paraguay

(3) Instituto Nacional del Cáncer Prof. Dr. Manuel Riveros (MSPyBS), Ramal Areguá Km 16 y 1/2, Capiatá, Paraguay

Introducción Las infecciones nosocomiales afectan en gran medida a los centros de salud, públicos y privados en todo el mundo. El control de infecciones nosocomiales producidas por el ambiente es un factor fundamental cuando se habla de áreas críticas. Es por eso que la toma de muestras se torna un proceso crítico y, por tanto, la selección de un medio de cultivo eficiente que permita el crecimiento de la mayor cantidad de microorganismos presentes en estos ambientes es fundamental. **Objetivo** Considerando lo mencionado, el objetivo del presente estudio fue evaluar el medio de cultivo más efectivo para el crecimiento de bioaerosoles fúngicos en un hospital público especializado. **Metodología** Las muestras fueron recolectadas el 03 de mayo de 2021 mediante el uso del muestreador automático TRIO.BASTMDUO con la siguiente configuración de flujo, 200 l/min por 5 minutos, en placas descartables de 9cm. Se prepararon tres diferentes medios de cultivo, agar sabouraud (AS), agar papa dextrosa (PDA) y agar czapek (ACz). Cada colecta se realizó por sextuplicado de los ambientes de la cocina y el pasillo de circulación del hospital. Al momento del muestreo se tomaron datos de humedad y temperatura. Seguidamente las placas con medio fueron incubadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por un periodo de 5 días, posteriores a los cuales se realizó el conteo de UFC (unidades formadoras de colonias). La cantidad de UFC/m³ fue calculada mediante el uso de la fórmula: $\text{Nro. UFC/m}^3 = \text{Nc} \times 1000 / 30 \times \text{Nu}$, donde: 30= es el volumen de aire muestreado, Nc= número de colonias por placa y Nu= unidades de tiempo. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el uso del paquete estadístico InfoStat, con el cual se realizó el análisis de varianza mediante el test de Tukey con un intervalo de confianza del 95%. **Resultados** Se encontraron diferencias significativas entre PDA y ACz respecto AS. El mayor número de UFC se presentó en ACz con una media 1716 ± 48 UFC/m³ y el menor número en AS con 1462 ± 48 UFC/m³. La normativa española NTP 299: Método para el recuento de bacterias y hongos en aire, tomada como referencia para este estudio indica que, si la cantidad de UFC/m³ supera 500, es recomendable identificar los patógenos presentes en los ambientes. El ACz es un medio selectivo especialmente diseñado para el cultivo de bacterias y hongos saprófitos, y como los organismos que se encuentran en los bioaerosoles son por lo general saprófitos, es posible que por esta razón fue el que logró un mayor crecimiento. Por otra parte, el AS aunque es especial para hongos, en este medio pueden crecer bacterias y se considera un medio débilmente selectivo por su pH ácido de 5.6 ± 0.2 y es posible que por eso la cantidad de UFC/m³ fue menor. **Conclusión** Se pudo concluir que para la determinación de la presencia de bioaerosoles y de este modo la evaluación de la calidad del aire el medio más efectivo fue el ACz.

Financing: Fuente de Financiamiento: CONACYT Paraguay, a través Prociencia con los fondos del FEEL. Proyecto 18-513 - Evaluación de bioaerosoles fúngicos en ambientes hospitalarios mediante el análisis del microbioma por secuenciamiento del metagenoma.

El microambiente influye más que la identidad del micobionte en la estructuración del gremio solubilizador de fosfato asociado a cianolíquenes *Peltigera* del sur de Chile

Katerin Almendras¹, Matías Pezoa¹, Karla Veas-Mattheos¹, Margarita Carú¹, Julieta Orlando¹

(1) Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile

Aunque generalmente los líquenes son descritos como una asociación simbiótica entre un hongo y al menos un compañero fotosintético, estudios recientes han demostrado que los líquenes albergan un microbioma diverso y abundante. Este microbioma actualmente es considerado como un componente esencial de la simbiosis, lo que ha llevado a redefinir a los líquenes como complejas asociaciones multiespecie. Se ha sugerido que el microbioma estaría llevando a cabo importantes funciones dentro de la simbiosis, facilitando el suministro de nutrientes esenciales tales como el fósforo. El objetivo de este trabajo fue determinar la diversidad funcional y taxonómica de las bacterias solubilizadoras de fosfato presente en el microbioma asociado a talos y sustratos (i.e. suelo adyacente al talo) de 4 especies de cianolíquenes *Peltigera* creciendo en la Reserva Nacional Coyhaique (Región de Aysén, Chile). Las comunidades bacterianas de las 80 muestras se caracterizaron mediante secuenciación masiva del gen 16S rRNA, amplificado con primers que excluyen al cianobionte. Las ASVs se infirieron siguiendo la tubería DADA2 y se definió el microbioma core como aquellas ASVs con prevalencia ≥ 0.9 . A partir de las secuencias 16S, se predijeron los metagenomas bacterianos utilizando el software PICRUSt2 y se seleccionaron aquellas ASVs que contuvieran al menos 1 de los 21 genes relacionados al ciclo del fósforo buscados para caracterizar el gremio solubilizador de fosfato. Del total de ASVs detectadas en el microbioma core, un 82,7% se definió como solubilizador de fosfato. Se encontraron ASVs conteniendo hasta 14 genes funcionales distintos, relacionadas con los géneros *Bradyrhizobium*, *Reyranella*, *Mesorhizobium* y *Tardiphaga* (Proteobacteria). En general, los genes detectados en mayor abundancia fueron *phoD* y *phoX* (fosfatasa alcalina), *phnFGHIJKLMN* (C-P liasa) y *gcd* (glucosa deshidrogenasa). Tanto *phoX* como *phnFGHIJKLMN* fueron más abundantes en las muestras de talos, mientras que *phoD* y *gcd* fueron más abundantes en los sustratos. La mayoría de estos genes se relacionan con bacterias del filo Proteobacteria, aunque también se encontró un alto porcentaje de bacterias del filo Actinobacteria conteniendo los genes *phoD* y *phoX*, y del filo Acidobacteria conteniendo el gen *gcd*. A nivel de género, se observó que talos y sustratos compartieron ~50% de los géneros detectados, siendo los sustratos los que presentaron mayor diversidad. Al llevar a cabo análisis multivariados, se observó una clara separación del gremio solubilizador de fosfato de acuerdo con el microambiente (talos y sustratos), mientras que no se observaron diferencias al comparar las 4 especies de cianolíquenes para cada microambiente. Debido al alto porcentaje de taxa compartidas entre talos y sustratos, se sugiere que parte del gremio solubilizador de fosfato asociado a los talos podría estar siendo adquirido desde el ambiente. Sin embargo, debido probablemente a que talos y sustratos contendrían distintas formas de fósforo para ser solubilizado, el microambiente influiría más que la identidad del micobionte en estructurar al gremio solubilizador de fosfato.

Financing: FONDECYT 1181510

APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE MICRORGANISMOS NA BIOREMEDIAÇÃO DE AMBIENTES IMPACTADOS COM POLIETILENO

Karolayne Silva Souza¹, Daniela Bomfim de Barros¹, Milena Roberta Freire da Silva¹, Rafael Artur de Queiroz Cavalcanti de Sá¹, Hevellin Talita Sousa Lins¹, Maria Betânia Melo de Oliveira¹

(1) Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Av. Moraes Rego, 1235 Cidade Universitária, Recife, Brasil

Introdução: A produção de polímeros sintéticos surgiu como resultado do crescimento industrial dos séculos XIX e XX. Dentre os diferentes tipos de polímeros comercializados pela indústria, o Polietileno (PE) se destaca por ser um dos mais utilizados e produzidos no mundo, atingindo 150 milhões de toneladas por ano. Devido à alta demanda e utilização do PE pelas indústrias e sociedade, o descarte desse polímero tem resultado em graves problemas para o ecossistema, uma vez que pode permanecer no meio ambiente por até 100 anos. Assim, estratégias de biorremediação de PE pós-consumo têm sido utilizadas em estudos com microrganismos como alternativa para a biorremediação sustentável desses compostos. O objetivo do estudo foi analisar através da literatura científica a utilização de microrganismos como perspectiva biodegradável do PE em ambientes impactados. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão bibliográfica do tipo narrativa da literatura, em que foram utilizadas as bases de dados eletrônicas: Pubmed, Lilacs e Biblioteca Virtual em Saúde para busca de artigos científicos, utilizando os principais descritores e operadores booleanos: "Biodegradation" AND "Environmental" AND "Environment" AND "Polyethylene" de 2013 a 2021, em inglês e português. **Resultados:** O uso de microrganismos na biodegradação de polímeros sintéticos como o PE consiste em um conjunto de processos resumidos em quatro etapas: 1. escolha potencial dos microrganismos, que deve conter o maquinário metabólico capaz de biodegradar esses compostos sintéticos recalcitrantes, como por exemplo, bactérias do gênero: *Comamonas* sp., *Delftia* sp. e *Stenotrophomonas* sp.; as etapas 2, 3 e 4 correspondem à biodeterioração do PE com a fragmentação mecânica do material, causada pelo crescimento bacteriano, seguida da biofragmentação que permite a oxidação e despolimerização dos compostos devido à secreção de enzimas oxidativas e radicais livres destas microrganismos, causando a fragmentação em massas molares menores. Após a biofragmentação, porções menores podem ser internalizadas por esses microrganismos para serem metabolizadas, gerando energia, biomassa e outros metabólitos. Enfatizando a última etapa, ou seja, na mineralização de compostos metabolizados, a oxidação resultará em produtos metabólicos como CO₂, N₂, CH₄ e H₂O. **Conclusão:** O processo de biodegradação do PE por microrganismos tem sido descrito como uma perspectiva sustentável viável por apresentar potencial biotecnológico no processo de biorremediação de ambientes impactados com polímeros sintéticos. Apesar dessas aplicações e vantagens, é necessário o desenvolvimento de estudos adicionais, os quais possibilitarão um melhor entendimento desses mecanismos biodegradáveis e sua utilização no tratamento de resíduos em escala industrial.

Financing: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

Genoma ensamblado de metagenoma de 'Candidatus Marsarchaeota AZ1' de sedimentos fotosintéticos termales del campo geotérmico de Los Azufres, México.

Roberto Marín Paredes¹, Yunuen Tapia Torres¹, María Esperanza Martínez Romero², Luis Eduardo Servín Garcidueñas¹

(1) Universidad Nacional Autónoma de México, Laboratorio de Microbiómica, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701 Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta, Morelia, México

(2) Universidad Nacional Autónoma de México, Laboratorio de Microbiología Ambiental y Simbiótica, Centro de Ciencias Genómicas, Av. Universidad s/n Col. Chamilpa, Cuernavaca, México

La arquea *Candidatus Marsarchaeota* ha sido descrita recientemente dentro del Parque Nacional de Yellowstone, Estados Unidos en sitios con una alta presencia de hierro, con rangos de pH entre 2.5 y 3.5 y temperaturas entre 50°C y 80°C. *Ca. Marsarchaeota* tiene un metabolismo quimioorganotrofo y es probable que usen sulfonatos como fuente principal de carbono. Se cree que *Ca. Marsarchaeota* es capaz de usar como aceptor final de electrones tanto el oxígeno (O₂) como el hierro (Fe(III)) lo cual explicaría por qué esta arquea crece en ambientes microaeróbicos con grandes cantidades de Fe(III). Los genomas reportados hasta la fecha de *Ca. Marsarchaeota* presentan un tamaño de genoma entre 1.08 Mb a 3.73 Mb y un contenido de GC entre 43.8 a 50.3%.

El presente proyecto reporta la presencia de una arquea *Ca. Marsarchaeota* en una muestra de sedimentos termales fotosintéticos del campo geotérmico de Los Azufres, México. El campo geotérmico de Los Azufres alberga una gran cantidad de manifestaciones geotérmicas de origen natural. Las manifestaciones geotérmicas que se encuentran en Los Azufres son principalmente manantiales termales, fumarolas y solfataras (pozas termales de lodos ácidos) que pueden alcanzar los 90°C, con un pH menor a 4.0 y altas concentraciones de sulfatos, silicatos y metales pesados tales como el hierro. Dichas condiciones son similares a las reportadas en los sitios donde se encontró la presencia de la arquea *Ca. Marsarchaeota* en el Parque Nacional de Yellowstone, Estados Unidos.

Se colectó una muestra de sedimentos termales fotosintéticos del campo geotérmico de Los Azufres que presentaba una temperatura de 65°C y un pH de 2.5 El metagenoma se secuenció mediante la plataforma de secuenciación Illumina HiSeq 2500 2x250 y fue ensamblado mediante el programa SPAdes. Para recuperar el genoma ensamblado de metagenoma de *Ca. Marsarchaeota* AZ1 se usó la combinación de tres métodos de binning (Maxbin, Metabat, Concoct) mediante el programa DASTool. La calidad del genoma de *Ca. Marsarchaeota* AZ1 se revisó mediante el programa Checkm. El genoma de *Ca. Marsarchaeota* se anotó mediante el servidor Rapid Annotation Using Subsystem Technology (RAST).

El genoma de *Ca. Marsarchaeota* AZ1 tiene un tamaño de 2,395,375 pb en 75 contigs con un contenido de GC de 51.69% y una completitud de genoma del 95.95% (basado en 149 marcadores moleculares de arqueas). *Ca. Marsarchaeota* AZ1 presenta un valor de identidad promedio de nucleótidos (ANI) de 75.65% contra el genoma de *Ca. Marsarchaeota* G2 archaeon ECH_B_1. Este valor de ANI indica que son especies relacionadas. La anotación de *Ca. Marsarchaeota* AZ1 mediante RAST encontró que las categorías de subsystem que presentan un mayor número de secuencias son; aminoácidos y derivados (29.55%), carbohidratos (14.53%) y metabolismo de proteínas (13.30).

Se reporta el primer genoma de *Ca. Marsarchaeota* AZ1 encontrado fuera del Parque Nacional de Yellowstone, Estados Unidos. A partir de este genoma se podrán realizar análisis de genómica comparativa contra los genomas de *Ca. Marsarchaeota* reportados previamente y así trazar la evolución y la dinámica de estas arqueas en diferentes regiones del mundo.

Comparación de cuatro métodos de aislamiento de actinobacterias a partir de hormigas *Atta mexicana* Smith (Hymenoptera: Formicidae)

Jorge Víctor Maurice-Lira¹, Jesús Romero-Nápoles¹, Jesús Pérez-Moreno², Karla Yolanda Flores-Maldonado³, Ariel Wilbert Guzmán-Franco¹, Héctor González-Hernández¹

(1) Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Postgrado de Entomología y Acarología, Carretera México- Texcoco Km. 36.5, Montecillo, CP 56230, Texcoco, Estado de México, México

(2) Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Microbiología, Postgrado de Edafología, Carretera México- Texcoco Km. 36.5, Montecillo, CP 56230, Texcoco, Estado de México, México

(3) Universidad Autónoma de Tamaulipas, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Bulevar Adolfo López Mateos s/n, Centro, CP 87149, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México

Las interacciones simbióticas insecto-actinobacterias han cobrado relevancia los últimos años ya que los microorganismos mutualistas favorecen la supervivencia de los insectos porque actúan como extensiones metabólicas o como protección contra patógenos. Además, representan un potencial biotecnológico en diversos campos, como la agricultura y la farmacéutica. Múltiples estudios proponen diversos métodos para aislar actinobacterias a partir de varias especies de hormigas, sin embargo, es necesario identificar el más eficiente. El objetivo del presente trabajo fue comparar diferentes métodos para aislar actinobacterias a partir de especímenes de hormigas obreras de la especie *Atta mexicana* Smith. Se compararon cuatro métodos de aislamiento de actinobacterias en dos medios de cultivo: Czapek-Dox y PDA+Nistatina (1.5 mL L⁻¹) para inhibir el crecimiento fúngico. Método "Lavado": cada espécimen se colocó en un tubo de microcentrífuga de 2 mL con 1 mL de agua destilada estéril. Se mezcló en vórtex 30 s y 100 µL de la mezcla se sembró por difusión. Método "Raspado": consistió en raspar el tórax, pronoto, pleuras y cabeza de cada espécimen con un palillo de dientes de madera estéril para remover las actinobacterias del exoesqueleto, después se estrió el medio con el palillo. Método "Frotado": se tomó cada espécimen con pinzas estériles y se frotó directamente en los medios de cultivo. Método "Trituración": cada obrera se trituró con una varilla de vidrio en un microtubo de 2 mL con 1 mL de agua destilada estéril. Después se mezcló con vórtex 30 s y se sembraron 100 µL de la mezcla por difusión. Todos los métodos se incubaron a 27.6 °C, y se revisaron a las 64 y 96 h. Se desarrolló un diseño experimental en bloques aleatorios generalizados y se realizó un ANOVA con el programa R (V 3.3.1). Se calculó la viabilidad de los tratamientos mediante el porcentaje de cajas Petri que obtuvieron al menos una UFC sobre el total de cajas utilizadas para cada tratamiento; y la eficiencia se calculó con el porcentaje de UFC obtenidas a las 96 h, al considerar como 100% de eficiencia el mayor número de UFC obtenido. El medio Czapek obtuvo mayor número de colonias de actinobacterias comparado con el medio PDA-nist (P<0.05). El método "Trituración" en medio Czapek-Dox obtuvo una viabilidad y eficiencia del 100%, además fue el que generó la mayor cantidad de UFC (198 a 96 h), con un promedio de 66±18.6. El método "Lavado" en medio Czapek-Dox también obtuvo una viabilidad del 100%, aunque su eficiencia fue del 75.7%, ya que solo desarrolló 155 UFC a las 96 h con un promedio de 17.2±339.9. Es probable que la trituración influya en el aumento de UFC ya que se mezcla la microbiota interna como externa, mientras que el "Lavado" favorece la microbiota del exoesqueleto, por lo que la elección del método dependerá más del objetivo de cada investigación, ya que si se requiere aislar el total de las poblaciones de actinobacterias la "Trituración" es más viable, sin embargo, si se desea aislar solo las actinobacterias ectosimbióticas, entonces se recomienda más el "Lavado".

Financing: Se agradece el financiamiento a CONACYT y el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo

Fungal deterioration control in outdoor environments by nano-additivated waterborne paint

Erasmus Gámez-Espinosa¹, Cecilia Deyá^{1,2}, Natalia Bellotti^{1,3}

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT) (CONICET-UNLP-CICPBA), Buenos Aires, Argentina

(2) Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina

(3) Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina

Biodeterioration of facades in building constructions causes economic damage. Filamentous fungi by their presence cause aesthetic damage to structural materials. In addition, its invasive growth through hyphae generates physical deterioration and due to its nutrition and excretion, they release enzymes, acids and pigments that cause chemical deterioration. To control fungal deterioration, paint additives with nanostructured biocides can be applied on facades. In addition, it is important that the nanoadditive maintains its long-term antimicrobial activity to delay fungal deterioration. The aim of this research was to assess the antifungal activity of a waterborne paint additivated with ZnO nanoparticles (ZnONPs) after 4 years exposed to the outdoor environment. Control paint without biocides (PC), was prepared following the corresponding composition, % by weight. Following also this formulation, paints additivated with the ZnONPs were prepared replacing, by weight, the natural calcium carbonate by the corresponding NPs (PZnO). The nanoparticles were supplied courtesy of Dr. Facundo Ruiz, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México. Paints films were exposed to the natural weather conditions of La Plata city (34°54'S and 57°55'W). Biodeterioration observed on the coatings was evaluated taking into account ASTM D 5590 standard. The mycobiota of the samples was studied after 4 years of exposition to the outdoor environment. The paints were swabbed and the fungi were isolated following conventional microbiological techniques. In addition, relative density (RD) and apparition relative frequency (RF) of the isolate were calculated. Samples paints exposed to natural weathering were evaluated in relation to biodeterioration. Visual inspection and the use of the stereoscopic microscope were used to rate the performance in each case. At the end of the test, the biodeterioration increase in the samples with PC being the heavy growth. The PZnO samples maintained a notable difference with the control samples with trace to light biofilm growth being. PC the RF of the isolated were *Rhodotorula* sp. (95%), *Cladosporium* sp. (90%), *Alternaria* sp. (75%), *Epicoccum nigrum* (69%) and *Mucor* sp. (55%). Therefore, *Rhodotorula* sp. (Basidiomycota) and *Cladosporium* sp. (Ascomycota) are abundant; *Alternaria* sp. (Ascomycota) and *E. nigrum* (Ascomycota) are common and *Mucor* sp. (Mucoromycota) is moderate. Also to the strains mentioned previously, *Penicillium* sp. was isolated only from the PZnO. In PZnO the fungi had less FR and DR with respect to PC due to the presence of ZnONPs. In this study, it was possible to formulate a waterborne paint containing ZnPNOs as additive to control the biodegradation of facades and can be used to prevent fungal deterioration in hospitals and buildings.

Financing: Acknowledgments Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CICPBA), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) and Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Argentina.

Aislamiento e identificación de géneros con potencialidad celulolítica en ambientes del Módulo de Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de Misiones

Emiliano Lautaro Gomez Quintero¹, Maximiliano Gabriel Gómez¹, Lidia Sabina Rodríguez¹, Marta Aurelia Horianski¹, Gladis Jerke¹

(1) Módulo de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Microbiología Licenciatura en Genética, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales - Universidad Nacional de Misiones, Mariano Moreno 1375 (CP 3300), Posadas, Argentina

Una gran parte del patrimonio cultural de la humanidad está constituido por papel y se halla preservado en museos, archivos y bibliotecas. El papel es un material celulósico susceptible al biodeterioro causado por microorganismos productores de un grupo de enzimas conocidas como celulasas. Entre estos microorganismos se encuentran hongos pertenecientes a las divisiones Ascomycota como *Aspergillus* spp. y *Trichoderma* spp., Mucoromycota como *Rhizopus* spp. y *Mucor* spp., y Basidiomycota como *Phlebiopsis* spp. y *Pleurotus* spp., que además de ser responsables del biodeterioro de papel y otros materiales celulósicos, están asociados a procesos de hipersensibilización y micosis en humanos. Sin embargo, a pesar del impacto negativo que puede acarrear la presencia de estos organismos, la producción y manejo de algunas de las enzimas producidas por ellos, tienen un gran potencial de aplicación en una gran variedad de industrias. En el caso particular de las celulasas, una de sus aplicaciones se centra en el manejo de residuos agroindustriales. Así es que, tanto por sus beneficios como por sus perjuicios, es importante conocer la diversidad fúngica y su potencial capacidad celulolítica presente en un determinado ambiente. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar aquellos géneros fúngicos potencialmente productores de celulasas en la biblioteca sala de lectura (BLE), biblioteca sala de libros (BLI), Fotocopiadora (Fot) y oficina de administración (Adm) del Módulo de Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de Misiones, los cuales son ambientes que albergan grandes cantidades de papel. Se realizaron 2 muestreos por cada estación climática durante 2017 - 2019, en los cuales se utilizó el método de sedimentación gravitacional en placas de Petri, con Agar-Papa-Dextrosa-Rifampicina. Las placas por triplicado se expusieron abiertas describiendo una línea diagonal en cada ambiente durante 15 minutos, se incubaron en estufa a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 5 días. Cada una de las colonias aisladas fue conservada en agar agua para análisis posteriores. Para la identificación a nivel de género se utilizaron claves taxonómicas, realizando descripciones macroscópicas de las colonias y observaciones microscópicas, utilizando la técnica de cinta adhesiva y azul de lactofenol. Mediante consultas bibliográficas fueron determinados aquellos géneros productores de celulasas. En BLE, BLI y Fot se contabilizaron 102, 108 y 196 colonias respectivamente, pertenecientes a 21 géneros descriptos como celulolíticos, *Cladosporium* fue el más representado, seguido por *Aspergillus*, *Aureobasidium* y *Geotrichum*, mientras que en Adm se identificaron 186 colonias, distribuidas en 20 géneros reportados como celulolíticos, nuevamente, *Cladosporium* fue el más abundante, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Geotrichum* fueron otros géneros bien representados en cuanto a número de colonias contabilizadas. Finalmente, en los cuatro ambientes muestreados, otoño fue la estación donde se detectó una mayor diversidad de géneros y un número mayor de colonias. Los ambientes muestreados poseen una importante diversidad fúngica con potencialidad celulolítica, por lo se debe evaluar la capacidad de producir celulasas para un mejor manejo y conservación del material susceptible a la acción de estos microorganismos.

Financing: Beca CIN (Consejo Interuniversitario Nacional -Argentina-) convocatoria becas EVC 2019 (Programa de Becas de Estímulo a las Vocaciones Científicas) . Resolución CE No. 1518/20.

Decolorization of Orange II azo-dye by biomass of *Mucor* sp. produced in low-cost medium

Rafael de Souza Mendonça^{1,2}, Lucas Albuquerque Rosendo da Silva^{1,2}, Valberto Barbosa de Oliveira^{1,2}, Thayná Romana da Silva Candido^{1,2}, Daniel de Moraes Sobral^{1,2}, Rosileide Fontenele da Silva Andrade^{2,3}, **Dayana Montero Rodríguez**^{2,4}, Galba Maria de Campos Takaki²

(1) Catholic University of Pernambuco, Post-graduation Program in Development of Environmental Processes,, Rua do Príncipe 526, Boa Vista, 50050-900, Recife, Brazil

(2) Catholic University of Pernambuco, Nucleus of Research in Environmental Sciences and Biotechnology, Rua Nunes Machado 42, Bloco J, Térreo, Boa Vista, 50050-590, Recife, Brazil

(3) Catholic University of Pernambuco, Centre for Biological Sciences and Health, Rua do Príncipe 526, Boa Vista, 50500-900, Recife, Brazil

(4) Catholic University of Pernambuco, Post-Doctorate National Program-CAPES, Rua do Príncipe 526, Boa Vista, 50050-900, Recife, Brazil

Nowadays, water pollution caused by dye contaminants has become a severe global issue and aroused tremendous attention, since it is estimated that more than 100 thousand types of commercial organic dyes have been produced. Meanwhile, huge amounts of dyes have been discharged into a natural environment during the production process, which causes serious environmental and health problems. Hence, it is quite urgent to remove these toxic dyestuffs from water, and several methods have been devoted to resolving this issue, including biosorption processes. In this context, current study aimed at the decolorization of Orange II azo-dye using biomass of *Mucor* sp. as alternative biosorbent. For this, the Mucoralean fungus was initially cultivated in a low-cost medium containing 6% whey and 1.18% barley, at pH 6, 28°C and 150 rpm, during 96 h. Fungal biomass obtained after filtration and centrifugation of cultures was subjected to lyophilization and determined by dry weight. Subsequently, it was placed in saline solution (0.9% NaCl) and inactivated by sterilization in an autoclave at a temperature of 120 °C for 30 min. Both active and inactivated biomass were used for decolorization of an Orange II azo-dye solution of 0.025 mM, at 28°C and 150 rpm, for 24 h. Experiments were carried out in triplicate and aliquots of 2 ml were collected and centrifuged at 10000 g for 6 min at 0, 4, 8, 16, 20 and 24 h of incubation. Discoloration was determined by measuring absorbance at 485 nm in UV-Visible spectrophotometer. According to the results, the highest percentage of removal (62%) was obtained by inactivated biomass at 8 h. Thus, this study confirmed the suitability of fungal biomass as alternative biosorbent for dye removal and the cost-effectiveness of it uses due to inexpensive production using agro-industrial substrates.

Financing: Supported by CNPq (Process Nr. 314422/2018), CAPES and FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco - APQ-0638-2.01/19)

A borracha na era da economia circular: novas demandas para a ecotoxicologia

Ricardo Meirelles Cruz¹, Nelson Lima²

(1) Centro Universitário UNINTER, MBA em Recursos Hídricos, Gestão Ambiental, Caxias do Sul (RS), Brasil

(2) Universidade do Minho, CEB-Centro de Engenharia Biológica, Campus de Gualtar, Braga, Portugal

O pó de borracha micronizada (PBM) é classificado como borracha fragmentada elastomérica fina, seca, em pó, em que uma proporção significativa de partículas é inferior a 100 µm. As distribuições de tamanho de partícula do PBM variam tipicamente de 180 µm a 10 µm. Distribuições de tamanho mais estreito podem ser obtidas dependendo da tecnologia de classificação. O PBM resulta de uma moagem ultrafina através de sistemas de facas rotativas, podendo ser feito também por fricção de cilindros ou de moinhos com ar comprimido, e consiste que a peça refugada, vinda da fase da preparação e/ou vulcanização, ou devolvida pelo cliente seja sucessivamente granulada e, depois, particulada e livre de outros componentes (e.g., metais, fibras, etc.). Esta abordagem assenta numa estratégia sustentabilidade e de economia circular geradora de benefícios ambientais e econômicos. Dado a produção mundial da borracha natural e sintética crescer continuamente (cerca de >15% nos últimos 8 anos), e apesar dos grandes esforços da reutilização desta matéria-prima em soluções inovadoras e no seu prolongar de ciclo de vida, cerca de 18% de PBM resultantes do desgaste dos pneus é liberada para o solo e a água concomitantemente com os seus lixiviados. O presente trabalho tem por objetivo apresentar uma proposta de metodologia de avaliação do impacto dos PBM na fração biótica em estações de tratamentos de águas de esgotos com lodos ativados, ou em lagoas de retenção, com o recurso aos protozoários-teste *Tetrahymena pyriformis* e *Epistylis* spp., através de um conjunto de testes de toxicidade. Para o teste de predação o uso de *Escherichia coli* fluorescente permitirá determinar a taxa de predação, bem como, e mimetizando a borracha natural originária da seringueira (*Hevea brasiliensis*), microesferas fluorescentes de látex serão igualmente usadas para prova de conceito. Após 20 min de incubação, as amostras são fixadas pela adição de solução de formalina neutra tamponada durante 1h. Retira-se cada sub-amostra às 1, 24 e 48h e observa-se com epifluorescência. O número de bactérias ou de microesferas ingeridas, em 30 células serão contabilizadas. Para o teste de crescimento será usado a contagem direta, ou por utilização um contador automático. Já o teste de morfometria por análise de imagem permitirá medir a área e a razão (C/L) dos eixos mais curto (C) e mais longo (L) das células. Os protocolos destes testes serão apresentados e discutidos como possível proposta de teste, ou bateria de testes, que permitam uma avaliação confiável dos efeitos ecotoxicológicos dos PBM neste protozoário. O principal resultado deste trabalho é avaliar se o protozoário-teste apresenta desempenho que lhe permite ser usado como bioindicador, bem como avaliar se um único tipo de teste toxicológico é suficiente e permite uma robusta monitorização ambiental. Dos nossos estudos concluímos que, para obter uma completa análise dos efeitos toxicológicos num organismo-teste, somente o uso de uma bateria de testes, que inclua a morfologia e a fisiologia, poderá fornecer uma informação holista e um conjunto de dados sobre os tóxicos em estudos. Usando essa abordagem, os PBM poderão ser estudados e avaliados em termos de efeitos ecotoxicológicos.

El cáncer colorrectal y su relación con la microbiota intestinal

Germán Andrés Cruz Moreno¹, Daniela Arturo-Terranova², Jaime Viafara², Andrés Obando², Ivo Siljic Bilicic², Mauricio Zuluaga²

(1) Universidad Santiago de Cali, Valle del cauca, Ciencias Básicas, Cra. 73 ##2a-80, Cali, Colombia

(2) Universidad del Valle, Valle del cauca, Posgrado Ciencias Biomédicas, calle 4b \$36b37, Cali, Colombia

El cáncer es una patología que involucra múltiples factores y representa la segunda causa principal de muerte a nivel mundial; específicamente el cáncer colorrectal (CCR) es uno de los más diagnosticados por lo cual se ha buscado identificar los factores que pueden contribuir con el desarrollo de la enfermedad o bien con el tratamiento de la misma. En los últimos años múltiples estudios han destacado la influencia tanto positiva como negativa que puede tener la microbiota intestinal en la preservación de la salud de las personas. Con el objetivo de revisar en literatura el papel que cumple la microbiota intestinal en un paciente con CCR, se realizó una búsqueda de bibliografía en las bases de datos PubMed y Google Scholar. Usando terminos como colorectal cancer, gut microbiota, dysbiosis, inflammation, short-chain fatty acids, integrated therapy, probiotics. Se encontró que los microorganismos residentes en el intestino pueden producir una serie de metabolitos y bioproductos necesarios para proteger la homeostasis del huésped y del intestino, lo cual es esencial ya que inhiben la colonización intestinal de patógenos. Por otro lado, el desequilibrio en la función o estructura de la microbiota intestinal, también conocido como disbiosis se ha asociado con una variedad de enfermedades, como el CCR, debido a que varias subpoblaciones de microbiota pueden expandirse durante la disbiosis patológica y producir altos niveles de toxinas capaces de desencadenar tanto la inflamación como una posterior carcinogénesis; dentro de las bacterias más estrechamente ligadas al CCR, se encuentran en mayor medida patógenos entéricos que se cree benefician al tumor o son puerta de entrada para el desarrollo de infecciones sistémicas; la bacteria de mayor asociación con el CCR es el *Streptococcus bovis* y las de menor frecuencia son *Clostridium septicum* y *Helicobacter pylori*. Sin embargo esto no quiere decir que la microbiota intestinal humana solo se encuentra asociada al CCR por los procesos de progresión asociados a la acumulación de mutaciones genéticas, factores inflamatorios crónicos y cambios epigenéticos que conllevan al crecimiento y expansión clonal de células alteradas, sino que también puede convertirse en una terapia potencial para esta patología, usando el modelamiento de la microbiota para dicho fin, puesto que muchos microorganismos dentro de la microbiota intestinal han mostrado actividades anticancerígenas. Algunas líneas de evidencia han demostrado que *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Bacteroides fragilis* no enterotoxigénicos (NTBF) pueden controlar el daño del ADN al promover la renovación del epitelio a través de la producción de ácido láctico, la modulación del sistema inmunológico al reducir la reserva de Th17, mejorando el complejo principal de histocompatibilidad en las células dendríticas, y mejorando el reclutamiento de células asesinas naturales y citotóxicas.

Contaminación microbiológica y fisicoquímica del agua potable en la ciudad de Oaxaca de Juárez, México

Edith A. Bernabé-Pérez¹, Amairany Matus-Trinidad², Luis J. Toledo-Flores², Jorge A. Marcos-Viquez³, José O. Franco-Gallardo³

(1) Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Medicina y Cirugía, Calz. San Felipe del Agua No. 108, Oaxaca de Juárez, México

(2) Instituto Tecnológico de Oaxaca, Depto. de Ing. Química y Bioquímica, Ave. V. Bravo Ahuja 125, Oaxaca de Juárez, México

(3) OpenLab, Departamento de Biología Molecular, Cerro del Agua 274, Ciudad de México, México

La Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, modificada en 2000, establece que el agua para uso y consumo humano, también denominada agua potable, no debe contener contaminantes objetables químicos o agentes infecciosos. Específicamente, dispone la ausencia de organismos coliformes totales (OCT) y organismos coliformes fecales (OCF) en el agua potable, así como la presencia de cloro residual libre (0.2-1.5 mg/l) en el líquido. El objetivo del estudio fue determinar la calidad sanitaria del agua potable que se distribuye en la red municipal de la ciudad de Oaxaca de Juárez, México, mediante análisis microbiológicos y fisicoquímicos establecidos en la norma referida. Las muestras se obtuvieron de nueve domicilios particulares del municipio en el periodo agosto-noviembre de 2019. Para la recolección de muestras microbiológicas se utilizaron bolsas plásticas estériles de 500 ml que fueron depositadas en una hielera enfriada a <math><10^{\circ}\text{C}</math>. Las muestras para los análisis fisicoquímicos se colocaron en botellas plásticas de 2 l de capacidad. Los estudios microbiológicos se iniciaron antes de 4 h de la recolección de las muestras. Para la prueba presuntiva de coliformes se sembraron porciones de 20 ml de cada muestra en cinco tubos de cultivo conteniendo 10 ml de caldo lauril triptosa 3X estéril. Los tubos se incubaron 48 h a 35°C. De cada tubo positivo se tomaron asadas para sembrar dos tubos de cultivo conteniendo 10 ml de caldo EC estéril. Uno de los tubos se incubó a 35°C y el otro a 45°C, durante 48 h. Los tubos positivos incubados a estas dos temperaturas permitieron determinar las cuentas de OCT y OCF, respectivamente. Adicionalmente, se realizó la cuenta de OCT y OCF sembrando por duplicado cajas Petri conteniendo agar cromogénico para coliformes estéril. Las cajas se incubaron a 35°C durante 24 h, después de lo cual se realizaron las cuentas de colonias tomando en consideración los factores de dilución apropiados. Las determinaciones fisicoquímicas incluyeron: color verdadero, turbiedad, pH, cloro residual libre, dureza total, sólidos totales, sólidos disueltos, sólidos suspendidos, sulfatos y cloruros. En todos los casos, los métodos se basaron en las normativas mexicanas correspondientes. Los resultados mostraron que las cuentas de OCT fueron positivas en 3 sitios en agosto (103 - 6.7x10⁴ UFC/100 ml), 6 sitios en septiembre (103 - 1.2x10⁴ UFC/100 ml), 8 sitios en octubre (1.1x10³ - 2.7x10⁴ UFC/100 ml) y 6 sitios en noviembre (2.0x10² - 1.1x10⁴ UFC/100 ml). Por otra parte, la presencia de OCF se detectó en un solo sitio de muestreo (2.0x10³ UFC/100 ml) en el mes de septiembre. Los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron dentro de los límites permitidos por la norma con una excepción importante, el cloro residual libre. De las 36 determinaciones realizadas entre agosto y noviembre de 2019, solo 5 se hallaron dentro de los límites normativos: dos en agosto, dos en septiembre y una en noviembre. Se concluyó que, en general, el agua potable que llega a los hogares oaxaqueños no reúne los requisitos establecidos en la normatividad mexicana, y por lo tanto, no es apta para el consumo humano.

Financing: Agradecemos el apoyo financiero del Tecnológico Nacional de México y la empresa OpenLab de la ciudad de México.

Evaluación de la resistencia a la formación de biopelículas bacterianas en pinturas con nanopartículas de ZnO obtenido del reciclado de pilas con una perspectiva sustentable

Guillermo Pablo Lopez¹, María Victoria Gallegos², Leyanet Barberia Roque¹, Natalia Bellotti^{1,3}, Miguel Angel Peluso^{2,4}

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas - CIDEPINT (CIC-CONICET-UNLP), Av. 52 e/ 121 y 122, B1900AYB, La Plata, Buenos Aires, Argentina

(2) Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas- CINDECA (CONICET-UNLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina

(3) Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, La Plata, Buenos Aires, Argentina

(4) Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, La Plata, Buenos Aires, Argentina

El estudio de pinturas bioactivas con uno o más aditivos con actividad antimicrobiana (biocidas), resulta de gran interés. El objetivo es impedir la formación de biopelículas en ambientes interiores, especialmente hospitales y viviendas. Los agentes antibacterianos son de mucha importancia para el control higiénico y la prevención de enfermedades en los interiores edilicios. Por otro lado, las pilas alcalinas agotadas son residuos muy peligrosos para el medio ambiente y los seres vivos, debido a su composición. El ánodo de dichas pilas está compuesto por una mezcla de ZnO y Zn(OH)₂ que puede ser recuperado para ser utilizado en la síntesis de nanopartículas de ZnO. En primer lugar, se recuperaron los iones Zn²⁺ a partir de pilas agotadas por un proceso biohidrometalúrgico. Luego en una segunda etapa se procedió a la precipitación usando Na₂CO₃, obteniendo un sólido denominado C-ZnO. Por otro lado, para la formulación de las pinturas los componentes seleccionados (pigmentos, aditivos y resina) de uso frecuente en la preparación de recubrimientos de base acuosa fueron obtenidos comercialmente. En tal sentido, se preparó la pintura control (PC) además de las pinturas experimentales con C-ZnO, reemplazando en peso a uno de los pigmentos extendedores (CaCO₃) en relación con el total de pintura. Las concentraciones evaluadas de C-ZnO fueron de 1,5% y 2%, las cuales están dentro del rango utilizado para aditivos de pinturas de uso comercial. Finalmente, se evaluó la resistencia de las pinturas a la formación de biopelículas bacterianas. La metodología empleada se basa en la exposición de las películas de pintura en un medio líquido inoculado con las cepas bacterianas de interés. Las cepas bacterianas de colección utilizadas para dicho ensayo fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y *Escherichia coli* (ATCC 11229) que desde el punto de vista sanitario representan un gran problema para la salud humana. En primer lugar, se pintaron soportes de vidrio con las pinturas en estudio. Se obtuvieron los inóculos con las diferentes cepas y se mezclaron con un medio de cultivo LB hasta una concentración de 10⁶ UFC/mL. Luego los vidrios pintados se pusieron en una placa multipocillos y fueron cubiertos por medio LB inoculado e incubadas en agitación a 30°C. Luego de 7 días las muestras fueron lavadas con solución de buffer fosfato, fijadas y deshidratadas para su observación mediante microscopía electrónica de barrido. Se observó un crecimiento activo y abundante de ambas cepas constatando la conformación de las biopelículas correspondientes en las muestras de pintura control (sin agregado de biocida). Las pinturas con C-ZnO tanto de 1,5% como de 2% presentaron resultados similares logrando prevenir el crecimiento activo de ambas bacterias y la correspondiente conformación de biopelículas. En estos recubrimientos no se observaron células bacterianas adheridas. Las dos formulaciones de pinturas con C-ZnO inhibieron el crecimiento de ambas bacterias, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* de forma importante en comparación con los controles. Los resultados muestran que es posible obtener nuevos materiales a partir de un residuo perjudicial, tanto para la salud humana como para el ambiente.

Potencial biotecnológico de biosurfactantes producido por una bacteria de origen antártico.

César Llafquén¹, Andrés Huenchupan¹, Catalina Pacheco³, Barbara Leiva², Felipe Gallardo⁴, Marcela Levío², Pamela Donoso², Maria Cristina Diez⁴, Claudio Lamilla⁵

(1) Universidad de la Frontera, Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de la Frontera, Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Ingeniería Civil Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Universidad de La Frontera, Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(5) Universidad de La Frontera, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los biosurfactantes (BS) son metabolitos secundarios de naturaleza anfipática producidos por una gran variedad de microorganismos como bacterias, hongos y levaduras. Estos BS presentan propiedades tensoactivas sobre la superficie de sustancias líquidas, es decir, son capaces de reducir la tensión superficial e interfacial del agua, lo que permite la formación y estabilización de sistemas heterogéneos como emulsiones con compuestos apolares. Los biosurfactantes han demostrado ciertas ventajas sobre sus homólogos de origen sintético, como alta biodegradabilidad, baja toxicidad y estabilidad en condiciones extremas de pH, temperatura y salinidad. Además, los BS poseen interesantes actividades biológicas, por ejemplo; antimicrobianas, antiadhesivas y antioxidantes, entre otras. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar el potencial biotecnológico de biosurfactantes producidos por una bacteria de origen antártico. Se utilizó la cepa *Streptomyces lurius*, la cual en trabajos previos, demostró elevada capacidad de producir biosurfactantes extracelulares. La producción se llevó a cabo en el medio de cultivo Bushnell Haas (BH) enriquecido con aceite de oliva al 2% p/v a $25\pm 1^\circ\text{C}$ y 160 rpm de agitación. El extracto libre de células (ELC) se obtuvo por la centrifugación del cultivo en BH a 9.000 rpm por 15 minutos. El sobrenadante obtenido, rico en biosurfactantes fue evaluado en diferentes actividades biológicas. Los bioensayos ecotoxicológicos de "toxicidad aguda" en *Artemia salina* y con peces juveniles *Poecilia reticulata*, se realizaron en las siguientes concentraciones del ELC (100, 75, 50, 25 y 10 % v/v). Como control se utilizó un detergente industrial al 10% v/v, el cual es ampliamente utilizado en pisciculturas de salmón en la región de La Araucanía, Chile. También, se realizó un ensayo de fitotoxicidad utilizando semillas de *Raphanus sativus*, aplicando el ELC, rico en BS, relación 1/10 con agua destilada, incubando las placas a $25\pm 1^\circ\text{C}$ por una semana. Como control positivo el detergente industrial al 10% (v/v) y un control negativo de agua destilada. Los resultados del bioensayo ecotoxicológicos, mostraron que el ELC rico en BS no mostró toxicidad aguda para los alevines de *Poecilia reticulata* y para *Artemia salina*, comparado con el detergente industrial fue dañino para ambas especies (100 % mortalidades). Para el ensayo de fitotoxicidad, se observó un elevado porcentaje de germinación (100%) de las semillas de *Raphanus sativus*, sin observar efecto de fitotoxicidad con el nivel de ELC aplicados. En cambio, con el detergente industrial ninguna semilla germinó. Estos resultados abren una ventana a la utilización de biosurfactantes como aditivos en el desarrollo de diversos procesos en áreas industriales y biotecnológicas. Se demostró su baja toxicidad por lo que pueden ser utilizados en diferentes ecosistemas sin general perturbaciones al ambiente. Por lo tanto, los biosurfactantes pueden ser utilizados como alternativa a los surfactantes de origen químico.

Financing: Agradecimientos: Los proyectos ANID/FONDAP/15130015, FONDECYT 3190918, FONDECYT 1211738, DIUFRO DI21-2015, GAP DI20-3005.

Distribución e Influencia de los factores ambientales en la ocurrencia de *Vibrio parahaemolyticus* en aguas costeras del Caribe y Pacífico colombiano

Maria Jisset Calvo Saad¹, Tania Córdoba-Meza², Angeline Montaña Valencia³, Paula Díaz Guevara³, Patricia Escandón Hernández³, Tatiana Cobos León³, Lizeth Paola Sánchez³, Janet Vivas-Aguas², Magdalena Wiesner³, Silvia Narváez-Florez^{1,3}

(1) Universidad ECCI, Ingeniería Ambiental, Ingeniería, Cra. 19 #49-20, Bogotá, Colombia

(2) Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés - INVEMAR, Programa Calidad Ambiental Marina, N/a, Calle 25 No. 2-55, Playa Salguero, Santa Marta, Colombia

(3) Instituto Nacional de Salud, Grupo de Microbiología-inv,, n/a, Avenida calle 26 No. 51-20 - Zona 6 CAN, Bogotá, Colombia

Introducción: El cambio climático ha ocasionado variaciones en los ecosistemas terrestres y marinos, lo cual implica para algunas especies, la ampliación o reducción de sus nichos ecológicos. *Vibrio* spp es una bacteria autóctona de los ecosistemas marinos y costeros, cuenta con gran variedad de especies con requerimientos ecológicos y biológicos específicos. En particular *Vibrio parahaemolyticus*, es el principal causante de gastroenteritis aguda asociado a consumo de comida de mar contaminada en América y Asia. Los brotes causados por esta especie se han relacionado con el aumento de la temperatura del mar, lo cual implica una problemática socioeconómica y de salud pública que requiere atención. En Colombia, existen pocos registros asociados al aislamiento de esta especie a partir de muestras en medios acuáticos. El objetivo de este estudio fue evaluar la distribución e influencia de los factores ambientales en la ocurrencia de *Vibrio parahaemolyticus* en aguas costeras del Caribe y Pacífico colombiano. **Metodología:** Los muestreos se realizaron en 38 estaciones distribuidas en siete departamentos de la costa Caribe y Pacífica entre agosto – noviembre de 2018, marzo – noviembre de 2019 y enero de 2020. Se recolectaron 72 muestras de aguas marinas (n=30), estuarinas (n=29) y fluviales (n=13). Se midieron in situ las variables temperatura, salinidad, conductividad, pH, oxígeno disuelto (OD) y se recolectaron muestras para el análisis de Clorofila α , sólidos suspendidos totales y la identificación de *Vibrio parahaemolyticus*. El aislamiento, identificación y cuantificación de *Vibrio* se realizó con la técnica de filtración por membrana y cultivo en medio selectivo agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS) y medio diferencial CHROMagar™ *Vibrio*. Las colonias típicas identificadas para *Vibrio parahaemolyticus*, se aislaron en agar nutritivo con NaCl al 1%. Se realizaron pruebas bioquímicas de oxidasa, cuerda, API 20E de Biomeriux y sistema automatizado VITEK® 2. Se realizó PCR para la confirmación de los morfotipos identificados (gen *T1h*). **Resultados.** *V. parahaemolyticus* se encontró en mayor proporción en la costa pacífica (el 78% de los 116 aislamientos), con mayor presencia en los departamentos de Nariño y Valle del Cauca. Se evidenció mayor recuperación en aguas marinas (51%) y estuarinas (46%) que en fluviales (3%). La concentración de la especie estuvo en un rango entre 15 UFC/100 mL – 71x10⁴ UFC/100 mL, siendo superior la concentración promedio en los departamentos de Nariño (36x10² UFC/100 mL) y Atlántico (16x10² UFC/100 mL). De las variables ambientales evaluadas únicamente se logró establecer correlación (0,267) entre *V. parahaemolyticus* y valores altos de salinidad, encontrando que el 69% de las ocurrencias se obtuvieron en un rango entre 21,6 – 35,9 ups. No obstante, se resalta que los registros de temperatura (25,2°C a 32,8°C), pH (7,00 a 8,87) y OD (4,00 – 9,89 mg/L) se encontraron acordes a los requerimientos biológicos reportados para la especie. **Conclusión:** La zona costera del pacífico colombiana puede ser un reservorio para *Vibrio parahaemolyticus* con rangos favorables de salinidad, temperatura y pH. Se genera con este estudio, una línea base a nivel nacional que servirá como insumo técnico para la generación de políticas en salud pública y socioambientales.

Financing: MINCIENCIAS, Instituto Nacional de salud, INVEMAR; Universidad ECCI

Diversidad genómica de arqueas presentes en sedimentos termales fotosintéticos del campo geotérmico de Los Azufres, México.

Roberto Marín Paredes¹, Yunuen Tapia Torres¹, María Esperanza Martínez Romero², Luis Eduardo Servín Garcidueñas¹

(1) Universidad Nacional Autónoma de México, Laboratorio de Microbiómica, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701 Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta, Morelia, México

(2) Universidad Nacional Autónoma de México, Laboratorio de Microbiología Ambiental y Simbiótica, Centro de Ciencias Genómicas, Av. Universidad s/n Col. Chamilpa, Cuernavaca, México

El campo geotérmico de Los Azufres se localiza en el Estado de Michoacán en el Cinturón Volcánico Transmexicano en el occidente de México. Los Azufres presentan una gran cantidad de manifestaciones geotérmicas de origen natural tales como manantiales termales, fumarolas y solfataras que pueden alcanzar los 90°C, con un pH menor a 4.0 y altas concentraciones de sulfatos, silicatos y metales pesados. Se ha encontrado la presencia de arqueas del orden Sulfolobales, Thermoplasmatales y arqueas de los filos Micrarchaeota y Parvarchaeota en estudios previos de diversidad microbiana mediante enfoques metagenómicos en Los Azufres, México. En esta investigación se secuenció y analizó un metagenoma de sedimentos termales fotosintéticos de Los Azufres que presentaban una temperatura de 65°C y un pH de 2.5 durante la colecta. El metagenoma se ensambló mediante el programa SPAdes. Para recuperar genomas individuales se usó la herramienta DASTool que genera genomas consenso a partir de los programas Maxbin, Metabat y Concoct. Una vez obtenidos los genomas individuales se revisó la calidad de dichos genomas mediante el programa Checkm y posteriormente fueron identificados mediante los programas CAT/BAT. Se lograron recuperar 17 genomas parciales de arqueas pertenecientes al orden Thermoplasmatales, a los filos Micrarchaeota y Parvarchaeota, y arqueas del grupo TACK. Del orden Thermoplasmatales se encontraron arqueas de los géneros Acidiplasma, Ferroplasma, Cuniculiplasma y arqueas Thermoplasmatales que no tienen un género establecido y se nombraron como ABC plasmas. Se encontraron ABC plasmas pertenecientes a los linajes A, B, E, I y otras desconocidas y sin linaje asignado. De las arqueas Micrarchaeota y Parvarchaeota se encontraron arqueas ARMAN-1 y ARMAN-5 respectivamente. Dichas arqueas presentan los genomas más pequeños reportados hasta la fecha de arqueas y carecen de rutas metabólicas para la síntesis de proteínas y nucleótidos. Las ARMAN-1 y ARMAN-5 presentan interacciones aún desconocidas con arqueas del orden Thermoplasmatales en un probable intercambio de nutrientes. Por último, se encontraron dos genomas del grupo TACK, una arquea relacionada con el orden Sulfolobales del género acidianus y otra arquea que no había sido reportada hasta 2018 la cual denominaron como Candidatus Marsarchaeota. Los Azufres ha mostrado ser hogar de diferentes tipos de arqueas de las cuales la mayoría aún permanecen sin estudiar o tener representantes aislados. Esto nos brinda una oportunidad de estudiar por qué estas arqueas se encuentran presentes en un ambiente como Los Azufres y cuál es su función ecológica en estos ambientes, así como su interacción con otras arqueas presentes en el mismo ambiente. Es importante mencionar que en este metagenoma de sedimentos termales fotosintéticos también se encontró la presencia de una gran variedad de bacterias y además se encontró la presencia de algas acidófilas perteneciente a la familia Cyanodiaceae.

La capacidad de las comunidades microbianas para fijar nitrógeno en el ecosistema es alterada por el nivel de aridez en suelos de regiones sudafricanas

Tomás Sauma Sánchez¹, Jaime Alcorta¹, Hugo Bezuidenhout², Beatriz Díez^{1,3,4}, Jean-Baptiste Ramond^{1,5}

(1) Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

(2) South African National Parks, South Africa

(3) Center for Climate and Resilience Research (CR)2, Chile

(4) Center for Genome Regulation, Chile

(5) Center for Microbial Ecology and Genomics, University of Pretoria, South Africa

Los desiertos se caracterizan -entre otras condiciones- por una mínima disponibilidad de agua durante la mayor parte del año. Debido a que la presencia de macroorganismos está limitada en estos ambientes por las condiciones extremas, las comunidades microbianas edáficas -y en refugios como las hipo- y endolíticas- son consideradas fundamentales en la regulación de la biodisponibilidad de nutrientes tales como nitrógeno, uno de los principales recursos limitantes en suelos áridos. Para comprender cómo varía la capacidad de fijación de nitrógeno en el ecosistema respecto a la aridez, se analizaron dos metagenomas shotgun de suelos áridos e hiperáridos, respectivamente, provenientes de Namaqualand y Ai-Ais|Richtersveldt National Parks, al suroeste de África. Según los marcadores 16S ARNr recuperados de los metagenomas, la composición comunitaria de las muestras a nivel de filos presentó similitudes con la descrita previamente para otras comunidades desérticas. El dominio Bacteria fue el más representado, con Actinobacteria y Proteobacteria como los filos dominantes en ambas muestras. No obstante, se obtuvieron mayores porcentajes de Proteobacteria, Acidobacteria, y Bacteroidetes en el suelo hiperárido, mientras que Actinobacteria y Chloroflexi estuvieron más representados en el árido. Inesperadamente, también se observó una menor diversidad alfa y riqueza en la comunidad proveniente del suelo árido. La anotación funcional detectó una mayor abundancia de la nitrogenasa nifH en el suelo árido. Por otro lado, las capacidades de reducción de nitrato y nitrito fueron dos procesos altamente representados en ambas muestras, pero con mayor presencia en el suelo hiperárido. Esto podría indicar que las comunidades edáficas aprovechan los reservorios de NO₃⁻ y NO₂⁻ para la generación de nitrógeno biodisponible en zonas con mayor aridez, frente a otras estrategias como la fijación de N₂. Esta idea se vería reforzada por una mayor cantidad de nitroalcano oxidasa en condiciones hiperáridas, y una presencia minoritaria de genes asociados a nitrificación. Los resultados obtenidos permiten profundizar los conocimientos disponibles respecto al rol potencial de las comunidades edáficas en la fijación del nitrógeno en los ecosistemas, y el efecto de la aridez sobre estas capacidades.

Financing: FondecytSouth African NRF FBIP program

Caracterización taxonómica y búsqueda de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana en genomas reconstruidos de metagenomas (MAGs) de la Antártica.

Catalina Leal¹, Andres Alberto Santos Ñanculef^{1,2}, Pablo Bruna¹, Kattia Núñez^{1,2}, Leticia Barrientos Díaz Díaz^{1,2}

(1) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada; Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Avenida Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile

La resistencia antibiótica comprende uno de los mayores desafíos para la medicina actual. En este contexto, la bioprospección de nuevos compuestos antimicrobianos a partir de ambientes extremos ha tomado gran relevancia en el descubrimiento de nuevos metabolitos para la industria farmacéutica. La Antártica es considerado uno de los ambientes extremos más prístinos, siendo Isla Decepción uno de los sectores menos estudiados de la Antártica. Los microorganismos que habitan ambientes extremos pueden haber desarrollado características evolutivas y metabólicas que les permitan sintetizar nuevos compuestos para subsistir en ambientes extremos, dentro de los cuales, los compuestos antimicrobianos podrían tener gran relevancia. Es así que el objetivo de este trabajo fue la búsqueda de clústeres productores de metabolitos con actividad antimicrobiana en genomas reconstruidos a partir de metagenomas (MAGs) de la Antártica. Para ello, se analizaron seis MAGs obtenidos desde metagenomas de la Isla Decepción. Para ello, se realizó un refinamiento de los MAGs con la herramienta RefineM 0.1.2. Luego, se realizó la identificación taxonómica mediante un análisis filogenómico con la herramienta GTDB-Tk v1.5.0 y finalmente se realizó la identificación clústeres de antibióticos y metabolitos secundarios en los MAGs con la herramienta AntiSMASH 6.0. Los resultados mostraron que, luego del proceso de refinado, todos los MAGs presentaron una alta calidad (>90% de completitud y <5% de contaminación). Luego de los análisis filogenómicos, realizados para la identificación taxonómica, se pudieron clasificar cuatro de los seis MAGs, los cuales se asociaron a especies de la familia Methylophilaceae del phylum Proteobacteria, familia UBA2774 del phylum Desulfobacterota, y familia SPJN01 del phylum Proteobacteria con valores de ANI entre 75-81%. Por otra parte, el análisis de metabolitos secundarios indicó los MAGs poseen principalmente clústeres asociados a la síntesis de péptidos sintetizados ribosómicamente y modificados post-traduccionalmente, más conocidos como RiPPs, los cuales son metabolitos con potencial acción antibiótica. Estos resultados entregan valiosa información respecto a las especies bacterianas que habitan la Isla Decepción, las cuales podrían ser una fuente promisoría en torno al potencial que pudiesen tener para la producción nuevos metabolitos con actividad antimicrobiana.

Financing: DI21–2017 de la Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera; y Proyecto NXR17-0003, Network for Extreme Environments Research.

Colección Pública de Microorganismos del Maule: la importancia de las colecciones regionales para el desarrollo científico-tecnológico local.

Lorena Barra-Bucarei¹, Javiera Ortiz-Campos¹, Karen Parra Andrade¹, Patricio Parra¹, Jean Franco Castro¹
(1) Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA-Chile. Banco de Recursos Genéticos Microbianos. Chillán, Ñuble, Chile.

La Región del Maule se ubica en la zona central de Chile. Tiene una superficie de 30.296 kms² y representa el 4% del territorio nacional. Su geografía se caracteriza por una gran diversidad de relieves, planicies litorales, Cordillera de la Costa, depresión intermedia, Precordillera y la Cordillera de Los Andes, con un clima predominante de tipo mediterráneo, con algunas variaciones. Estas características le confieren a la Región condiciones para el crecimiento y colonización de microorganismos nativos únicos, aportando a la biodiversidad y con un potencial incalculable de aplicación en los distintos ámbitos del desarrollo regional. Dado lo anterior, el objetivo de este trabajo fue conformar y caracterizar una colección pública de microorganismos nativos de la región del Maule-Chile para promover el desarrollo científico y tecnológico regional, preservando material genético de calidad para la generación de nuevos proyectos de investigación, desarrollo e innovación. Se recorrió el territorio regional para coleccionar muestras de suelo, vegetal y agua, posteriormente las muestras fueron procesadas en el Banco de Recursos Genéticos Microbiano de INIA-Chile (BRGM) en donde se realizaron aislamientos selectivos de 10 grupos de microorganismos con aplicación en los sectores agroalimentario y medio ambiente. Se realizó la identificación mediante técnicas moleculares y morfológicas, además de la caracterización mediante diversas técnicas de las cepas identificadas. Por último los microorganismos identificados y caracterizados fueron preservados (crioconservación y liofilización) e ingresados al BRGM. De los 135 puntos de muestreo de colecta se obtuvieron 148 muestras (98% de suelo, 16% vegetal y 1% agua), se aislaron 376 cepas de los grupos actinobacterias (27,7%), bacterias promotoras de crecimiento vegetal (17,8%), bacterias biocontroladoras de patógenos de planta (16,5%), hongos entomopatógenos (14,6%), levaduras (6,9%), hongos micopatógenos (5,3%), hongos nematófagos (4,3%), hongos fitopatógenos (2,7%), nematodos entomopatógenos (2,4%) y bacterias degradadoras de compuestos organofosforados (1,9%). Se identificaron 176 cepas pertenecientes a 42 géneros y se caracterizaron 150 cepas en su capacidad de biocontrol, promoción de crecimiento, fermentación de azúcares y remediación de suelos sobre distintos compuestos. Se conformó un catálogo público y actualmente se están distribuyendo microorganismos de esta Colección a instituciones regionales para la gestión de iniciativas de investigación, desarrollo e innovación. En conclusión la conformación de colecciones regionales permite preservar la biodiversidad microbiana territorial y disponer de germoplasma de calidad para la gestión de proyectos científico-tecnológico con impacto local y global.

Financing: Proyecto FIC "Transferencia Colección Pública de Microorganismos del Maule". Código BIP 40001104.

Aislamiento de microorganismos degradadores de compuestos organofosforado de la región del Maule, Chile.

Javiera Ortiz-Campos¹, Lorena Barra-Bucarei¹, Karen Parra Andrade¹, Patricio Parra Henríquez¹, Jean Franco Castro Figueroa¹

(1) Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA-Chile. Banco de Recursos Genéticos Microbianos. Chillán, Ñuble, Chile.

La Región del Maule se ubica en la zona central de Chile. Actualmente el manejo agrícola y forestal de esta región se realiza con un intensivo uso plaguicidas químicos, entre ellos productos organofosforados como herbicidas. Los productos organofosforados son altamente tóxicos, capaces de deteriorar los suelos cultivables, así como ocasionar graves daños en los ecosistemas y en la salud humana. Dado lo anterior, el objetivo de este trabajo fue aislar y preservar bacterias degradadas de glifosato, utilizando este compuesto como única fuente de fósforo. Se tomaron diez muestras de suelos provenientes de las colectas realizadas en distintos sectores de la Región, las cuales fueron procesadas en el Banco de Recursos Genéticos Microbiano de INIA-Chile (BRGM). A partir de cada muestra se tomó 1 g de suelo y se sembró en un tubo estéril con 10 mL de medio líquido mínimo de ventas (M9), suplementado con 0,01 g / L de glifosato. Los tubos se incubaron con agitación por 5 días en oscuridad a 150 rpm. Luego se tomó 1 mL de cada cultivo y se suspendió en un nuevo tubo estéril con medio líquido M9 suplementado con diversas concentraciones de glifosato (0,01; 0,05; 1 g / L), se incubaron por 7 días y nuevamente se pasó a un tercer tubo estéril y se incubaron durante 7 días más. Desde el tercer tubo se realizaron tres diluciones seriadas (10-3, 10-4 y 10-5) y se sembraron 100 µL de estas diluciones en placas de Petri con medio sólido M9 suplementado con 1 g / L de glifosato. Las placas de Petri se incubaron por 5 días en oscuridad y se seleccionaron colonias individuales provenientes de cada muestra hasta obtener cultivos puros. Una vez obtenida los cultivos puros, se conservaron por crioconservación y liofilización. De las 10 muestras de suelos utilizados se aislaron 16 bacterias degradadoras de glifosato, representando los sectores de colecta con un 32% de Las Buitreras, 32% de Constitución, 12% de La Laguna del Maule, 12% del Belloto, 6% de Romeral y 6% de Radal. Los microorganismos aislados se ingresaron al BRGM para formar parte de la Colección Pública de Microorganismos del Maule. En conclusión, en muestras de suelos provenientes de la región del Maule-Chile, se lograron aislar bacterias capaces de degradar glifosato, siendo mayor el porcentaje de aislamiento en sectores con cultivos forestales, estas bacterias podrían ayudar a mejorar los suelos degradados con alta presencia de plaguicidas químicos, participando en la restauración de los ambientes contaminados.

Financing: Proyecto FIC "Transferencia Colección Pública de Microorganismos del Maule". Código BIP 40001104.

Metabolómica de bacterias antárticas en co-cultivo: activación de vías metabólicas silentes

Leticia Barrientos Diaz Diaz^{1,2,3}, Kattia Nuñez-Montero^{2,3,4}, Andrés Santos Ñanculef^{2,3}, Rodrigo Salazar Celedón^{2,3}, Catalina Paz Leal Arévalo², Pablo Bruna Ferj², Felipe Burgos Navarrete²

(1) Universidad de La Frontera, Ciencias Básicas, Medicina, Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada; Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Medicina, Avenida Alemania 0458, 4° piso, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Avenida Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Cartago 159-7050, Cartago, Costa Rica

Los microorganismos resistentes a todas las clases de antibióticos de uso clínico aumentan cada año, provocando cada vez más muertes por infecciones intratables. Mientras tanto, desde hace más de dos décadas el descubrimiento de antibióticos se ha ralentizado y en su mayoría, las investigaciones culminan con el redescubrimiento de compuestos conocidos. Aunque podría pensarse que las fuentes naturales de antibióticos están agotadas, se ha demostrado que las bacterias, como fuente principal de antibióticos, poseen una diversidad desconocida de vías metabólicas codificadas en clúster de genes biosintéticos (BGCs) que se encuentran en estado silente o críptico en condiciones regulares de cultivo *in vitro*. Conseguir acceder a esta diversidad de metabolitos silentes podría aumentar las tasas de descubrimiento de antibióticos y para ello se recomienda estrategias ecológicas que provoquen la activación de metabolismos alternos en cultivo. En este contexto, las bacterias de ambientes extremos se han propuesto como una fuente inexplorada de metabolitos que podría ser una fuente promisoría de nuevos antibióticos. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar la producción de metabolitos secundarios con actividad antibiótica a partir de bacterias antárticas en un screening de co-cultivo con bacterias cohabitantes de su ambiente natural. Para esto un total de 34 bacterias antárticas previamente aisladas fueron cultivada en una batería de 12 medios de cultivo diferentes utilizando microbioreactores de 1,5mL de volumen de trabajo. Además, de su cultivo individual, cada cepa fue evaluada en cocultivo (inoculación doble) de dos cepas aisladas de la misma muestra o lugar geográfico. Después del crecimiento por 7 días se realizó la extracción con etil acetato y el análisis de metabolitos secundarios. Los extractos crudos resuspendidos en metanol fueron detectados por LC-QTOF-MS/MS y estudiados mediante análisis de interacción molecular con la herramienta de análisis metabolómico GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking). Los resultados mostraron que un único medio de cultivo permite la producción de un 40% de los metabolitos como máximo. Es decir, la incorporación de un panel de medios de cultivo aumenta en más de un 100% la cantidad de metabolitos producidos. Además, la variación en la composición nutricional de seis medios de cultivo fue suficiente para la producción del 95% de los metabolitos detectados. Por su parte, el cocultivo generó la activación de metabolitos en todas las cepas evaluadas, los cuales se encontraron en su mayoría conformando redes de numerosos compuestos y algunos de ellos con una abundancia elevada, incluidos análogos de antibióticos conocidos como la Actinomicina. Esto resalta la importancia ecológica de los metabolitos inducidos por el cocultivo. Nuestro trabajo destaca la importancia comprobar la producción de metabolitos variando las condiciones de cultivo en laboratorio y recomienda el uso de cocultivo para inducir vías metabólicas distintas en bacteria de la Antártica.

Financing: Agradecimientos: Este trabajo fue financiado parcialmente por el proyecto DI21-2017 de la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera; proyecto INACH RT_14-12; y proyecto NEXER (NXR17-0003).

ANTIBIOTIC RESISTANT BACTERIA ISOLATED OF MINEROMEDICINAL WATER SPRINGS FROM ECUADOR

Felix Andueza^{1,3}, Susana Arciniegas¹, Yonathan Parra¹, Sandra Escobar², Gerardo Medina³, Judith Araque³

(1) Universidad Central del Ecuador, FIGEMPA, Avenida Lagasca con Jerónimo Leiton. Ciudadela universitaria FIGEMPA, Quito, Ecuador

(2) Escuela Superior Politecnica del Chimborazo (ESPOCH), Bioquímica y Farmacia, Ciencias, Carretera Panamericana sur kilómetro 1 1/2, Riobamba, Ecuador

(3) Universidad de los Andes, Postgrado de Química de Medicamentos. Mención Biotecnología, Farmacia y Bioanálisis, Sector Campo de Oro prolongación avenida principal, Merida, Venezuela

Background: The indiscriminate use of mineromedicinal hot springs has resulted in their microbiological and chemical contamination. On the other hand, genetic exchange between autochthonous and allochthonous bacterial species has increased the presence of bacteria resistant and multi-resistant to various antibiotics, as well as their genes (resistomes), in natural aquatic ecosystems. This phenomenon currently represents a major public health problem that still needs to be studied in greater depth in order to mitigate its effect. In Ecuador few studies have been carried out on environmental resistomes in mineralmedicinal springs waters. **Objectives:** Know the profiles of resistance to antibiotics in bacteria isolated from mineralmedicinal springs waters in Ecuador. **Materials and methods.** Mineromedicinal hot water samples from 12 spas from different provinces of Ecuador (Chimborazo, Imbabura, Pichincha and Tungurahua) were analyzed, during a period of 2 years. Bacterial isolation was performed by plating in culture media such as R2A, cetrimide, and standard count agar. Bacterial identification was carried out according to the schemes proposed by Andueza (2007), MacFadden (2004) and Barrow and Feltham (1993), complemented with the biochemical tests of the Microgen bacterial identification galleries (Microgen, Bioproduct). The antibiotic resistance profile was determined by the Kirby and Bauer (1966) plate diffusion method, interpreted according to the CLSI manual (2018). **Results.** It was possible to isolate and identify bacterial strains of the *Aeromonas* (multiresistant to the antibiotics ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid and cephalothin), *Bacillus* (multi-resistant to antibiotics clindamycin, erythromycin, gentamicin, oxacillin, and penicillin), *Pseudomonas* (all strains were resistant to the antibiotics Ampicillin and Ampicillin-Sulbactam, and seven were multi-resistant to six antibiotics Ampicillin, Ampicillin-Sulbactam, Amikacin, Ceftazidime, Cefepime and Ciprofloxacin), and *Staphylococcus* (resistant to oxacillin). **Conclusions.** The results obtained indicate the need to carry out epidemiological surveillance studies in the mineralmedicinal water spas of Ecuador, since they are used by a large number of people who come to these environments to seek relief from their illnesses, many of which may have their altered immune defenses, and could put their health at risk when they come into contact with bacterial strains resistant and multi-resistant to a wide variety of antibiotics

Financing: Our gratitude to the research department of the Central University of Ecuador for the funds granted through the advanced project UCE 011

Caracterización genómica y metabólica de nuevos miembros de la familia Caldalkalibacillaceae identificados a partir de genomas ensamblados desde metagenomas (MAGs).

Pablo Bruna¹, Andrés Santos^{1,2}, Nicola Coyle³, Leticia Barrientos^{1,2}, Araxi Urrutia³, Jaime Urrutia Fucugauchi⁵, Ligia Pérez Cruz⁵, Jaime Martínez Urtaza⁴

(1) Laboratorio de Biología Molecular Aplicada; Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Avenida Alemania 0458

(2) Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Avenida Francisco Salazar, 01145 Temuco, Chile

(3) The Milner Centre for Evolution, Department of Biology and Biochemistry, University of Bath, Bath, UK.

(4) Departament de Genètica I de Microbiologia, Facultat de Biociències, Universitat Autònoma de Barcelona.

(5) Laboratorio de Paleoceanografía y Paleoclimas, Instituto de Geofísica, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacan 04510 D.F., Mexico.

Los sedimentos marinos de zonas anoxigénicas pueden ser fuente de nuevas especies bacterianas, cuyo estudio puede entregar información para el entendimiento de procesos bio-geoquímicos, adaptación y evolución en estos ambientes. En este contexto, Caldalkalibacillaceae es una pequeña familia, recientemente descrita y que es perteneciente al phylum Firmicutes, de la cual se tiene poco conocimiento respecto a sus características metabólicas y funcionalidad en los ecosistemas que habitan. En este trabajo se analizaron seis genomas ensamblados de metagenomas (MAGs) de alta calidad (completitud >90% y contaminación <2%) obtenidos a partir de sedimentos marinos asociados a zonas anoxigénicas de la cuenca de Alfonso, en el Golfo de California. La clasificación taxonómica de los MAGs se llevó a cabo mediante un análisis filogenómico con la herramientas GTDB-Tk v1.5.0 y PhyloPhlAn v3.0.60 utilizando 329 genomas representativos pertenecientes al orden Bacilli. Posteriormente, se llevó a cabo una reconstrucción metabólica de los MAGs utilizando el workflow "metabolic reconstruction" de Anvi'o7 utilizando SEED subsystems y la Kyoto Encyclopaedia of genes and Genomes (KEGG). El análisis filogenómico indicó que los MAGs pertenecen a la familia Caldalkalibacillaceae, siendo potenciales nuevos géneros de esta familia. Al comparar los resultados de la reconstrucción metabólica de los MAGs con los dos únicos representantes de esta familia, se determinó que los MAGs poseen una similitud metabólica del 70,95% con *Bacillus mannanilyticus* y *Caldalkalibacillus thermarum*. Donde las principales diferencias están en que los seis MAGs no son acetógenos, no poseen la vía fosfato acetiltransferasa-acetato quinasa, además, difieren en los tipos de mecanismos de resistencia a antibióticos y estrés ambiental. Entre las singularidades más importantes, detectadas solo en los MAGs, se observó que poseen capacidad de degradación del ácido trans-cinámico y catecol. Mientras que, en relación a los miembros de la familia, comparten el metabolismo energético asociado a la fijación de carbono, reducción asimilatoria de nitrato y reducción disimilatoria de sulfato. Estos resultados aportan valiosos datos asociados a la diversidad metabólica de la familia Caldalkalibacillaceae y además de una caracterización del potencial metabólico de los seis MAGs identificados en este ecosistema anoxigénico de la cuenca de Alfonso en el Golfo de California.

Financing: Agradecimientos: DI21–2017 de la Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera; y Proyecto NXR17-0003, Network for Extreme Environments Research.

Evaluación del efecto biocontrolador de *Trichoderma* sp. y fungicida de aceites esenciales de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y Orégano (*Origanum vulgare*) sobre el complejo *Fusarium* spp. en quinua (*Chenopodium quinua*).

Jeimy Lorena Valbuena Rodríguez¹, Adriana Marcela Valero Posada^{1,2}, Martha Elizabeth Benavides Rozo², Ingrid Rocío Fonseca Guerra¹

(1) Universidad de Boyacá, Boyacá, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Tunja, Colombia

(2) Universidad Santo Tomás, Boyacá, Departamento de Ciencias Básicas, Tunja, Colombia

La quinua, considerada como uno de los granos del siglo XXI, ha presentado gran atención en los mercados internacionales en los últimos años por su alto valor nutricional, siendo idónea para grupos con requerimientos dietarios especiales; razón por la cual es considerada como un alimento clave para la solución de hambrunas. Sin embargo, es frecuentemente atacada por el complejo *Fusarium* sp. el cual causa graves problemas en los cultivos, provocando pudrición de raíces y tallos, y por lo tanto grandes pérdidas económicas para los productores. Con el propósito de buscar un método sostenible de control del hongo, que permita el mantenimiento de ecosistemas saludables y la gestión sostenible del suelo, el agua y los recursos naturales, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto biocontrolador de *Trichoderma* sp. y la actividad antifúngica del aceite esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y y orégano (*Origanum vulgare*) sobre especies previamente caracterizadas del género *Fusarium*: *F. cerealis*, *F. graminearum*, *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, rescatadas en cultivos de quinua del departamento de Boyacá. La evaluación del efecto biocontrolador de *Trichoderma* sp. se realizó mediante pruebas de enfrentamiento empleando un aislado de suelo de un cultivo de quinua y una cepa *T. virens* ATCC- 9645. La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del efecto fungicida de los aceites se realizó mediante una prueba in vitro de difusión en pozo probando concentraciones de los aceites esenciales de forma pura y en dilución con DMSO (dimetilsulfóxido) en las concentraciones 10-1 hasta 10-8, como control se empleó clorhidrato de carbendazima a una concentración de 4.7%. En todos los casos se estableció un control de crecimiento de los hongos sin tratamiento y se incubaron a 27+ 1 durante 7 días. Se determinó que la cepa de *Trichoderma* aislada del cultivo tuvo un porcentaje de inhibición superior al 50% contra todas las cepas de *Fusarium* sp. inhibiendo principalmente a *F. graminearum* con un porcentaje de inhibición de 87.5%, así mismo su efectividad fué mucho mayor que la de la cepa ATCC, la cual presentó actividad únicamente sobre *F. oxysporum* (53.1), *F. equiseti* (40%), *F. cerealis* (18.2), porcentajes calculados con la fórmula Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PICR). El cálculo de la CMI permitió determinar que la dosis mínima inhibitoria para el aceite de tomillo fue de 10-2, para el aceite de orégano 10-3 así mismo, las diluciones inferiores no lograron porcentajes de inhibición significativos. Este estudio presenta alternativas amigables con el ambiente para el control de *Fusarium*. Recientemente se ha evaluado el potencial *Trichoderma* como promotor de crecimiento vegetal debido a que presenta actividad de solubilización de fosfatos, producción de sideróforos y fitohormonas como giberelinas y ácido indolacético. Así mismo los aceites pudieran ser una alternativa que permita el control de dichos patógenos de una manera efectiva y con baja toxicidad.

Financing: La presente investigación se encuentra cofinanciada por la Universidad de Boyacá y recursos provenientes del patrimonio autónomo del fondo nacional de financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas.

Comparación de métodos de muestreo de hongos para la determinación de la calidad del aire de un quirófano

Adriana Nuñez¹, Magdalena Sarmiento¹, Ana Acuña¹, Cecilia Ortíz¹, Tamara Ibarra Cáceres¹, Eduardo Ferreira¹, Juliana Moura Mendes², Cinthia Carolina Casal², Yadira Rocío Parra González¹, Danilo Fernández Ríos¹, Gilberto Antonio Benítez Rodas², Andrea Alejandra Arrúa²

(1) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biotecnología, Campus San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, Campus San Lorenzo, San Lorenzo, Paraguay

Introducción Los bioaerosoles son partículas microscópicas que pueden contener bacterias, virus y hongos y que presentan un riesgo potencial en ambientes hospitalarios. En áreas de riesgo de un hospital como los quirófanos en los cuales no deben estar presentes patógenos por estar ligados a infecciones que pueden afectar a los pacientes. **Objetivo** Evaluar de la eficiencia de métodos de muestreo para la determinación de la calidad del aire del quirófano mediante el estudio microbiológico de hongos presentes. **Metodología** Las muestras tomadas con el muestreador automático TRIO.BASTMDUO; condiciones de flujo, 200 l/min por 5 minutos con los medio agar sabouraud (AS), agar papa dextrosa (PDA) y agar czapek (ACz) . Paralelamente se realizó la colecta por sedimentación para lo cual se ubicaron placas de Petri con PDA, ACz y AS abiertas en diferentes puntos de la sala durante 20 minutos. Cada muestra por sextuplicado; se tomaron datos de temperatura y humedad. Seguidamente las placas fueron incubadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por un periodo de 5 días, posteriormente se contaron las UFC (unidades formadoras de colonias). La cantidad de UFC/m³ fue calculada mediante el uso de la fórmula: $\text{Nro. UFC/m}^3 = \text{Nc} \times 1000 / 30 \times \text{Nu}$, donde: Nc= número de colonias por placa y Nu= unidades de tiempo. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva. **Resultados** Al momento del muestreo, la temperatura fue de 26.7°C y 65% de humedad. En los dos métodos utilizados la cantidad de UFC/m³ fue variable, siendo superior en media en las placas provenientes del colector automático. En el método por gravedad el número de UFC/m³ varió de 1 hasta 18 UFC/m³, mediana de 5 UFC/m³ mientras que con el colector, varió entre 460 y 1693 UFC/m³, mediana de 1457 UFC/m³. Los resultados obtenidos evidencian que el uso del método de sedimentación es ineficiente ya que no representa la carga de los bioaerosoles fúngicos presentes. Es necesario establecer lineamientos y control microbiológico de los sistemas de aireación obligatorios para la construcción de hospitales, teniendo en cuenta el tipo de área, en este caso un quirófano y que, el mismo cumpla con todos los requerimientos sanitarios para proteger la salud de los pacientes y de los trabajadores. En Paraguay no existen normativas obligatorias sobre el diseño de hospitales y límites máximos de bioaerosoles presentes en ambientes hospitalarios. La normativa española, NTP 299: Método para el recuento de bacterias y hongos en aire tomada como referencia, indica que en ambientes como los quirófanos, que deben permanecer estériles, la cantidad de UFC/m³ debe ser cero y que, si se superan las 500 UFC/m³, se recomienda la identificación de los microorganismos presentes en las placas. Es recomendable el uso de filtro de aire especialmente diseñados para estas áreas y la implementación de procedimientos de limpieza adecuados que permitan mantener lo más bajo posible los niveles de bioaerosoles presentes. **Conclusión** Se pudo concluir que para la determinación de la presencia de bioaerosoles fúngicos y que, de este modo, la evaluación de la calidad del aire el método más efectivo fue el del colector automático.

Financing: Financiamiento: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT Paraguay, a través PROCENCIA con los fondos del FEEL. Proyecto 18-513 - Evaluación de bioaerosoles fúngicos en ambientes hospitalarios mediante el análisis del microbioma por secuenciamiento del metagenoma.

Identificación genética de las bacterias aisladas del agua del río Usumacinta, Tabasco México

María Concepción de la Cruz-Leyva¹, Jessica Jossé Pérez Palma¹, Lázaro de la Torre-Gutiérrez¹, Temani Durán-Mendoza¹, José Ulises González-de la Cruz¹

(1) Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos, Carretera Tenosique a Estapilla Km 1, Tenosique, Tabasco, México

Las bacterias patógenas como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Shigella*, entre otras que habitan en el agua dulce de los ríos y lagos, pueden causar enfermedades en los organismos acuáticos y en la población humana, que realiza diversas actividades en estos ambientes o cuando a partir de ellos adquieren productos alimenticios. En este sentido la finalidad de este trabajo fue identificar genéticamente las cepas bacterianas aisladas del agua de la cuenca media del río Usumacinta, México. Para lo cual, se extrajo el ADN genómico de cada una de las 69 bacterias aisladas previamente con método de cultivo en placa. El ADN se extrajo a partir del procedimiento indicado en un sistema de extracción comercial. Los ADN se amplificaron utilizando una mezcla de reacción que contenía: agua bidestilada estéril, búfer de amplificación, cloruro de magnesio, albúmina de suero bovina, oligonucleótidos, iniciadores universales (16SS (forward) (5' -AGAGTTTGATCCTGG-CTCAG-3') y 16SR (reverse) (5' -AGAGTTTGATCCTGG-CTCAG-3'), enzima polimerasa y ADN blanco). Donde se establecieron las condiciones térmicas para su amplificación. Los productos de PCR se verificaron en gel de agarosa al 1% (p/v). Los productos amplificados fueron secuenciados en un laboratorio externo. El manejo y refinado de las secuencias recibidas (± 850 pb) se llevó a cabo en el programa BioEdit y la clasificación taxonómica se realizó con el programa BLAST en las bases de datos del GenBank y Ribosomal Database Project. Los resultados mostraron que el 39.13% de las cepas analizadas eran *E. coli*, otras especies identificadas fueron: *E. fergusonii*, *Escherichia* sp, *Enterobacter* sp, *Et. cloacae*, *Et. aerogenes*, *Et. hormaechei*, *Klebsiella* sp, *K. pneumoniae*, *Citrobacter* sp, *C. freundii*, *C. rodentium*, *Cronobacter sakazakii*, *Lysinibacillus xylanilyticus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*. Se ha citado que las bacterias en el agua pueden intercambiar información genética; las patógenas se hacen más resistentes a las condiciones adversas influenciadas por impactos antropogénicos. Lo cual acrecienta su patogenicidad y algunas especies aumentan la resistencia a los antibióticos o desarrollan multiresistencia (Kuczynski, 2016). El interés por identificar las bacterias del río Usumacinta se debe a que, el agua en la cuenca media de este río pasa por poblaciones suburbana y urbana donde se suministra agua potable obtenida del mismo. Se sabe que el proceso de potabilización no siempre es suficiente para asegurar la calidad del agua; ya que, aunque se eliminan las células vegetativas del agua, pueden estar presentes las toxinas bacterianas que han evidenciado toxii infecciones en peces y en las personas. Por ejemplo, *E. coli* que produce verotoxina con actividad citotóxica, enterotoxina termolábil y termoestable. Así que la identificación genética de una parte de la microdiversidad presente en agua del río Usumacinta en esta investigación, dará lugar a otras dirigidas a conocer el origen de las enfermedades pueden estar afectando a los peces y a la población humana.

Financing: Estudio de la calidad del agua y tres especies pesqueras de la cuenca alta del río Usumacinta, México. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT: 2013IB-04-2016).

EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE GENERACIÓN DE OZONO EN EL CONTROL DE MICROORGANISMOS EN AIRE DE AMBIENTES DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DE PERÚ

Judith Mercedes Yali Rivera¹, Jaime Alonso Rosales Rimache¹, Katherine Silvia Yauri Condor¹

(1) INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, SALUD OCUPACIONAL, Calle Las Amapolas 350 - Lince, Lima, Perú

Introducción: El ozono es un gas altamente oxidante y capaz de afectar materiales orgánicos e inorgánicos a una concentración determinada. Esta característica permite su empleo como biocida en el control de microorganismos en superficies y aire. El objetivo del presente estudio fue evaluar un sistema de generación de ozono (SGO) en el control de microorganismos en aire de ambientes del Instituto Nacional de Salud (INS) de Perú. **Metodología:** Seleccionamos 10 ambientes del INS. Se empleó un cañón portátil con capacidad de producción de ozono de 5000mg/h (Lynx-E 5G). El tiempo de exposición al ozono fue ajustado según el área de cada ambiente, considerando 1 min/m². El muestreo de aire se realizó por método de impactación usando el equipo multiorificio Microbiological Air Sampler (MAS-100 NT, Merck), programado a un caudal de aspiración de 100L/min. Los medios de cultivo utilizados fueron: Agar Plate Count (PCA) para el recuento total de microorganismos incubado a 35°C±2°C por 48h; y Agar Oxitetraciclina Glucosa (OGA) para recuento total de hongos filamentosos incubado a 25°C±2°C por 5 días. El muestreo de aire se realizó pre y post exposición al SGO y los volúmenes de aire fueron 200, 500 y 1000L. La identificación de bacterias se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF, Bruker) y de hongos por pruebas bioquímicas (API ID, Biomerieux). **Resultados:** La mediana de UFC obtenidas en PCA con un volumen de aire de 500L fue de 48.5 (RIC: 38) y 39.5 (RIC: 37) pre y post exposición al SGO; no evidenciándose diferencias significativas (p=0.241). Similares resultados se obtuvieron con un volumen de aire de 1000L, 76 (RIC: 39) y 66 (RIC: 24) pre y post exposición al SGO; no evidenciándose diferencias significativas (p=0.066). Por otro lado, la mediana de UFC obtenida en OGA con un volumen de aire de 200L fue de 58.2 (RIC: 23) y 47 (RIC: 20) pre y post exposición al SGO; evidenciándose diferencias significativas (p=0.047). Asimismo, con un volumen de aire de 1000L la mediana de UFC fue 127 (RIC: 58) y 84 (RIC: 37) pre y post exposición al SGO; evidenciándose diferencias significativas (p=0.005). Se identificaron 30 cepas pre exposición al SGO (20 hongos y 10 bacterias); Hongos: *Penicillium* spp. (6/30: 20%); *Neoscytalidium dimidiatum* (5/30: 16.7%); *Aspergillus* spp. (5/30: 16.7%). Bacterias: *Pseudomonas oryzae* (3/30: 10%); *Pseudomonas stutzeri* (2/30: 6.7%) *Pantoea agglomerans* (1/30:5%) sin identificar (4/30 :13.3 %) y 22 cepas post exposición al SGO (20 hongos y 2 bacterias); Hongos: *Aspergillus* spp. (7/22: 35%) *Neoscytalidium dimidiatum* (3/22: 15%) fueron los más frecuentes, *Penicillium* spp. (2/22: 10%); *Hialohifomiceto* (2/22 :10%); *Gliocladium* spp. (2/22: 10%); *Acremonium* spp. (1/22: 5%). Bacterias: *Pseudomonas stutzeri* (1/22: 5%) y *Pantoea agglomerans* (1/22: 5%) sin identificar (1/22: 5%). Se evidencia la misma frecuencia de especie de hongos pre y post exposición al SGO a diferencias de las bacterias. **Conclusión:** El SGO no inhibe el crecimiento de bacterias, pero sí de la mayoría de hongos. Nuestros resultados evidencian un método eficaz para la descontaminación de hongos en ambientes, pero que requiere de reevaluación para el control de bacterias.

Financing: Autofinanciado.

Eficiente remoción del insecticida tiametoxam en medio líquido por actinobacterias de suelo

Gabriela Briceño¹, Daniela Figueroa M.¹, María Cristina Diez J.¹, Claudia Benimeli², Heidi Schalchli¹

(1) Centro de Excelencia en Investigación Biotecnológica Aplicada al Medio Ambiente (CIBAMA), Universidad de La Frontera., Ingeniería y Ciencias, AVENIDA FRANCISCO SALAZAR 01145, TEMUCO, Chile

(2) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos, PROIMI-CONICET., Av Belgrano y Caseros, San Miguel de Tucumán, Argentina

Los insecticidas neonicotinoides se utilizan en diversos cultivos agrícolas a nivel global desde su introducción en el mercado. Como una forma de minimizar la exposición ambiental y sus efectos evidenciados en polinizadores, actualmente se utilizan principalmente como recubrimiento de semillas. Sin embargo, se estima que sólo entre 2-20% del plaguicida es translocado por la planta para cumplir su función protectora, mientras que el plaguicida restante se distribuye en el suelo. Los neonicotinoides se caracterizan por ser altamente solubles y algunos son altamente persistentes, originando contaminación de aguas subterráneas y superficiales, y modificaciones en la diversidad microbiana del suelo pudiendo incluso afectar la fertilidad. Considerando lo anterior, se plantea la necesidad de formular inoculantes que puedan disminuir el efecto residual de plaguicidas en el suelo y así evitar futuros efectos negativos ya sea ambientales, ecológicos y/o para la salud de la población. En este estudio se aisló y caracterizó actinobacterias de suelo agrícola y se evaluó la degradación del insecticida tiametoxan (TMX) (3-(2-Chloro-5-thiazolylmethyl)tetrahydro-5-methyl-N-nitro-4H-1,3,5-oxadiazin-4-imine) en medio líquido. Antes de escoger las cepas degradadoras de TMX, se realizó una selección basándose en evaluaciones cuantitativas y cualitativas. Luego dos cepas de actinobacterias fueron utilizadas para evaluar la degradación del plaguicida en medio líquido por un periodo de 30 días. Parámetros cinéticos fueron determinados. Además, se evaluó la actividad enzimática de la enzima nitrilo hidratasa la cual ha sido asociado con la degradación de neonicotinoides. Los resultados obtenidos mostraron que 15 cepas fueron tolerantes a TMX (25 mg L⁻¹) y una remoción entre 0.5% y 19% se observó luego de 48 horas de incubación en medio líquido. Para evaluar la eliminación de 5 mg L⁻¹ de TMX, se seleccionaron las cepas TM22 y TM24. Luego de 30 días de incubación, se observó un k (d⁻¹) de 0.060 y 0.079 y un tiempo de vida media (T_{1/2}) de 9.0 y 11.0 días, siendo la cepa TM22 la más rápida en eliminar TMX. Lo anterior fue coincidente con la mayor actividad nitrilo hidratasa, la cual fue cuantificada extracelularmente con un valor de 0.0040 μ M de nicotinamida mL⁻¹ min⁻¹. De acuerdo a nuestros resultados, las cepas de actinobacterias estudiadas constituyen una importante herramienta biotecnológica para ser utilizada en la eliminación del insecticida TMX, por lo que futuros estudios deber ser conducidos para conocer la respuesta en suelo.

Financing: Proyecto ANID/REDES190020

Detección de microorganismos patógenos en leche fresca mediante técnicas moleculares

Luis Javier Toledo-Flores¹, Luisa Mazas-Martínez¹, **Edith A. Bernabé-Pérez**², Lucía Martínez-Martínez², Jorge Ángel Marcos-Viquez³, José Osman Franco-Gallardo³

(1) Instituto Tecnológico de Oaxaca., Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Ave. Víctor Bravo Ahuja 125, Oaxaca de Juárez, Oax, México

(2) Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Medicina y Cirugía, Calz. San Felipe del Agua No. 108, Oaxaca de Juárez, Oax., México

(3) Laboratorio OpenLab, Departamento de Biología Molecular, Cerro del Agua 274, Copilco Universidad, Ciudad de México, México

La Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010 contiene las disposiciones sanitarias con relación a la leche y otros productos lácteos. La norma establece que la leche pasteurizada, apta para el consumo humano, debe estar exenta de la presencia de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Un porcentaje importante de la producción de leche en México no pasa por un proceso de pasteurización, el cual permite eliminar las bacterias nocivas al calentar la leche a una temperatura específica durante un tiempo determinado. La carga microbiana representa un riesgo sanitario y es indicativo claro de la mala calidad del producto. Los métodos convencionales para la identificación de microorganismos patógenos son cultivados en una serie de medios nutritivos bajo condiciones particulares de tiempo y temperatura. Estos métodos implican el pre-enriquecimiento y el enriquecimiento selectivo, seguidos de los pasos de aislamiento y las pruebas de identificación. Estos métodos tienen la desventaja de desarrollarse en tiempos relativamente largos, además de ser laboriosos. El objetivo del estudio fue evaluar mediante métodos cualitativos el riesgo sanitario presente en leches frescas que se consumen en los Valles Centrales de Oaxaca, México, aplicando técnicas de biotecnología molecular. Se adquirieron muestras de leche de dos pequeñas unidades productoras de la región, las cuales fueron transportadas a una temperatura de 4–8 °C y fueron procesadas en un lapso máximo de 2 h después de su traslado al laboratorio. Se realizó la extracción de ADN genómico mediante lisis alcalina, centrifugación e incubaciones periódicas. La pureza del ADN se determinó estableciendo la relación de absorbancia 260/280 entre un rango de 1.8 a 2.0. La integridad se evaluó utilizando geles de agarosa al 2%. Las muestras del ADN fueron utilizadas para el análisis de PCR convencional utilizando oligonucleótidos específicos para la identificación de los microorganismos. Se optimizaron gradientes de temperatura y concentración de éstos. Como control positivo de amplificación se utilizó ADN genómico de cada una de las bacterias de interés crecidas en medios de selección. Se empleó la técnica de electroforesis en geles de agarosa entre 0.7% y 2% para analizar los resultados de reacciones de alineamiento, integridad de ADN y productos de la PCR. Los resultados mostraron que la extracción de ADN bacteriano a partir de las muestras de leche permitió eliminar la posible interferencia de inhibidores propios del alimento. Asimismo, se encontró que la amplificación resultó positiva aun cuando los patógenos se hallaban en las muestras a una concentración de por lo menos 30 UFC/g. Del total de muestras analizadas con la técnica de PCR, el 100% resultaron positivas a los cuatro microorganismos evaluados. Los resultados de los métodos bacteriológicos convencionales, por otra parte, no detectaron la presencia de *Salmonella* spp., pero sí de los otros tres microorganismos. La metodología molecular propuesta permitió reducir el tiempo de análisis de 5 días para los métodos convencionales a 5 horas para esta nueva metodología.

Financing: Se agradece el apoyo económico del Tecnológico Nacional de México y el uso de equipo e instalaciones de la UABJO y la empresa Laboratorio OpenLab.

Caracterización de un biofilm moderadamente termofílico asociado a la corrosión del aluminio 7075

Joaquin Atalah¹, Lotse Blamey¹, Jenny M. Blamey^{1,2}

(1) Fundación Biociencia, José Domingo Cañas 2280, Ñuñoa, Santiago, Chile

(2) Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Estación Central, Santiago, Chile

La evidencia acumulada en las últimas décadas ha vuelto cada vez más evidente la participación de microorganismos en los procesos de corrosión de metales de uso humano, para la cual los biofilms bacterianos cumplen un rol central. Sin embargo, los mecanismos precisos de esta degradación biológica están lejos de estar claros y establecidos, lo que tiene un impacto negativo en la detección y prevención oportuna de la corrosión influenciada por microorganismos o biocorrosión. En este contexto se estudió un consorcio pro-corrosivo conformado de bacterias moderadamente termofílicas, aislado de un biofilm encontrado en una superficie de aleación de aluminio 7075 (AA7075). Con el objetivo de determinar factores que contribuyan a la cualidad pro-corrosiva del consorcio, este fue caracterizado a nivel de comunidad microbiana, producción de metabolitos, y composición de sustancia polimérica extracelular. Para ello se extrajo y secuenció el material genético presente en cultivos del consorcio, se determinó la actividad de algunas enzimas redox producidas por éste y se extrajo el EPS asociado a los cultivos para determinar su composición glicosídica usando GC/MS. Además, se realizaron ensayos de corrosión exponiendo placas de AA7075 al consorcio estudiado durante 40 días, tras lo cual se obtuvo imágenes de microscopía de barrido de electrones (SEM). La composición de la comunidad microbiana obtenida por secuenciación reveló una alta predominancia del género *Bacillus*, con presencia de algunos géneros que previamente han sido descritos como termófilos y rara vez relacionados con la corrosión, incluyendo los géneros *Anoxybacillus* y *Thermoanaerobacter*. El EPS obtenido desde los cultivos mostró alto porcentaje de manosa. Se determinó que el consorcio produce catalasa, una enzima redox que ha sido previamente asociada a corrosión. Los resultados observados en los ensayos de corrosión demuestran que la acidificación del medio como resultado del crecimiento del consorcio es un factor principal en el efecto corrosivo observado. De esto se puede concluir que el consorcio estudiado induce la corrosión del AA7075 por mecanismos inespecíficos asociados a su crecimiento sobre la superficie de la aleación. Esto es consistente con la gran diversidad de especies y géneros que han sido reportadas como causantes de biocorrosión.

Financing: This work was supported by the AFOSR under project FA9550-19-1-0234.

Caracterización metagenómica de la diversidad taxonómica y funcional en suelos de los campos de géiseres de El Tatio y de la Antártica

Andrés Alberto Santos Nanculef^{1,2}, Leticia Barrientos^{1,2}, Jaime Martínez-Urtaza³, Francisco Solís⁴, Bernardita Valenzuela⁴, Pedro Zamorano^{4,5}

(1) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Medicina, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Avenida Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile

(3) Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Genètica i de Microbiologia Facultat de Biociències, 08193 Bellaterra, Barcelona, España

(4) Universidad de Antofagasta, Laboratorio de Microorganismos Extremófilos, Avenida Angamos 601, Antofagasta, Chile

(5) Universidad de Antofagasta, Departamento Biomédico, Facultad de Ciencias de la Salud, Avenida Angamos 601, Antofagasta, Chile

Los microorganismos extremófilos son capaces de sobrevivir bajo condiciones ambientales extremas en relación al pH, temperatura, radiación, entre otras. Hoy en día, estos microorganismos se consideran como un recurso invaluable para estudios de evolución, adaptación y también, para la bioprospección de metabolitos de interés. En nuestro país encontramos dos ambientes extremos de gran relevancia y que permanecen poco explorados, ellos son El Tatio y la Antártica. Es así que el objetivo de este trabajo fue caracterizar la diversidad bacteriana presente en estos ambientes extremos, su composición y su potencial como fuente de metabolitos de interés biotecnológico. Para ello se analizaron cinco muestras obtenidas desde suelos de la isla Decepción, Antártica y cinco muestras pertenecientes al campo de géiseres de El Tatio. El análisis de la diversidad taxonómica de ambos ambientes, se llevó a cabo mediante el metabarcoding del gen 16S ARNr, mientras que, para estudiar la diversidad funcional y metabólica de las comunidades bacterianas, se realizó un enfoque de secuenciación metagenómica shotgun. Los principales resultados indicaron que los suelos de la Antártica tienen mayor riqueza y diversidad de especies que los suelos analizados de El Tatio. La anotación funcional indicó que las muestras de la Antártica y El Tatio están dominadas por funcionalidades asociadas a la oxidación de amonio, reducción de sulfatos y reducción de nitritos. Además, se determinó que en las muestras antárticas predominan los mecanismos para lidiar con estrés oxidativo, mientras que en las comunidades de El Tatio destacan los mecanismos de estabilidad del ADN y procesos de traducción y transcripción. Se detectaron ocho categorías de enzimas de interés industrial en ambos sets de datos, ellas fueron: amilasas, catalasas, celulasas, pectinasas, lipasas, proteasas, xilanasas, y ADN polimerasas, siendo las muestras de la Antártica de especial relevancia en la prospección de estos metabolitos de interés biotecnológico. La reconstrucción metabólica de cada ambiente mostró que ambos tienen potencial asociado a la degradación de compuestos aromáticos, degradación de metano, producción de sideróforos y biosíntesis de carotenoides. Es posible concluir que las condiciones de estos dos ambientes extremos han modelado su diversidad taxonómica y funcional, volviéndolos una fuente valiosa para la prospección de nuevos metabolitos de interés biotecnológico. Finalmente, este trabajo entrega datos que aportan al conocimiento de la diversidad taxonómica y funcional en ambientes extremos de nuestro país y permitió generar un set de datos compuesto de cientos de genes y clúster de genes los cuales pueden ser utilizados en estudios posteriores con miras hacia aplicaciones tales como la biología sintética.

Financing: DI21–2017 de la Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera; y Proyecto NXR17-0003, Network for Extreme Environments Research.

Efecto antagónico de bacterias antárticas aisladas desde la rizósfera de *Deschampsia antarctica* sobre *Acinetobacter baumannii*.

Paz Orellana González¹, Daniela Otárola Bascur², Matías Reyes Moraga², Nancy Calisto Ulloa¹, Alequis Pavon Oro¹, Ana Gutiérrez Moraga¹, Gino Corsini Acuña¹

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, El Llano Subercaseaux 2801, San Miguel, Santiago, Chile

(2) Hospital de Enfermedades Infecciosas Dr. Lucio Córdova, Santiago, Chile

La actual resistencia de aislados de *Acinetobacter baumannii* frente a antibacterianos de uso común en clínica se ha transformado en un complejo escenario de salud pública a nivel mundial, llevando a comprometer su uso frente a las principales enfermedades infecciosas causadas por esta especie bacteriana. Sin embargo, se ha vuelto relevante la investigación de microorganismos que habitan en el continente antártico, debido a que dadas las condiciones de competencia que existen en ese hábitat, se favorece la investigación y búsqueda de nuevos compuestos o moléculas antibacterianas que puedan hacer frente a esta situación. Anteriormente, en nuestro laboratorio hemos identificado aislados de bacterias antárticas que han presentado distintos niveles de actividad antibacteriana frente a distintas bacterias patógenas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antagónico de bacterias antárticas aisladas desde la rizósfera de *Deschampsia antarctica* sobre *A.baumannii*. Para llevar a cabo este objetivo se trabajó con una colección de 58 aislados de bacterias antárticas desde la rizosfera de la planta antártica *D. antarctica*. Se realizó ensayo de detección de actividad antagónica mediante el método en placa con agar LB. Como primera instancia, se realizaron siembras en césped de la bacteria *A. baumannii*. Sobre cada césped se inoculó una colonia de cada una de las bacterias antárticas aisladas. Seguidamente, sobre cada siembra en césped de *A. baumannii* se inoculó 5 uL de sobrenadante concentrado por evaporación a 80 °C, a partir de cultivos de cada aislado antártico, utilizando dos estrategias: con y sin utilización de una membrana con un poro de 10 kDa de exclusión. Posteriormente, las placas con todas las condiciones indicadas se incubaron a 4 °C y 18 °C durante 18 h. Finalmente, se determinó la actividad antagónica midiendo el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento en milímetros en cada una de las condiciones ensayadas. Los resultados obtenidos mostraron que seis de los 58 aislados antárticos ensayados mostraron un efecto antagónico de crecimiento sobre *A. baumannii*, en las tres condiciones ensayadas: colonias, sobrenadante con membrana y sobrenadante sin membrana, correspondiendo a compuestos difusibles, termoestables y con un peso molecular inferior de 10 kDa. En conclusión, un 10% de los aislados antárticos presentaron actividad antagónica sobre *A. baumannii* mediante la secreción de compuestos termoestables y de bajo peso molecular que podrían ser de gran utilidad frente a la resistencia a antibióticos que hoy en día existe en esta especie bacteriana.

Financing: DIUA181-2020 Universidad Autónoma de Chile, Chile.

Deficiencia de nutrientes promueve la entrada de *Helicobacter pylori* a células de *Candida*

Fabiola Silva¹, Kimberly Sánchez¹, Luciano Arellano-Arriagada¹, Cristian Andres Parra Sepúlveda¹, Humberto Bernasconi², Víctor L. Campos¹, Carlos T. Smith¹, Apolinaria García-Cancino¹

(1) Universidad de Concepción, Microbiología, Facultad de ciencias biológicas, Concepción 4070386, Chile, concepción, Chile

(2) Laboratorio Pasteur, Concepción 4030000, Concepción, Chile

Helicobacter pylori es una bacteria que infecta el estómago de aproximadamente el 50% de la población mundial. El estómago humano es el nicho natural que provee todos los nutrientes necesarios a la bacteria para desarrollarse, fuera de este ambiente las condiciones estresantes pueden llevar a la muerte celular de *H. pylori*, lo que abre el cuestionamiento de ¿Cómo la bacteria es capaz de sobrevivir a ambientes extragástricos y diseminarse entre la población? Se ha informado que cepas de levaduras pertenecientes al género de *Candida* son capaces de portar intracelularmente en sus vacuolas a la bacteria patógena, lo que favorecería la sobrevivencia de la bacteria en ambientes extragástricos. Distintos estudios han demostrado que la internalización de *H. pylori* en *Candida* se ve promovida en condiciones estresantes para la bacteria como la presencia de antibióticos y el pH ácido, lo que apoya la hipótesis de que *Candida* podría ser un reservorio que protegería a la bacteria en ambientes estresantes. En este trabajo se ahondó en otro factor que podría desencadenar la internalización de *H. pylori* en células de *Candida* favoreciendo la sobrevivencia de la bacteria. El objetivo fue evaluar in vitro si las variaciones en la concentración de nutrientes en el medio de cultivo promueven la internalización de *H. pylori* dentro de las células de *Candida*. Para ello se realizaron co-cultivos entre cepas de *H. pylori* y *Candida* en caldo Brucella suplementado con suero bovino fetal (FBS) al 1%, 5% o 20% o en solución salina. Se observaron cuerpos similares a bacterias intra-levaduras (BLB) utilizando microscopía óptica, mientras que los BLB intra-levaduras se identificaron como *H. pylori* utilizando técnicas de FISH y PCR. La viabilidad intra-levadura de *H. pylori* (BLBs) se confirmó usando el kit de viabilidad bacteriana LIVE / DEAD BaLight. Se observó *H. pylori* intra-levadura en todas las combinaciones de cepas de bacterias-levadura co-cultivadas. Sin embargo, los porcentajes de células de levadura portadoras de bacterias (Y-BLB) variaron según la concentración de nutrientes, encontrándose un porcentaje de Y-BLB significativamente mayor en condiciones de medio suplementado al 1% con FBS. En conclusión, las concentraciones reducidas de nutrientes estresan a *H. pylori*, promoviendo su entrada en las células de *Candida*. Sin embargo, en condiciones de inanición (solución salina) el porcentaje de Y-BLB fue reducido, comparable con lo obtenido cuando se realizaron co-cultivos en medio suplementado con 20% de FBS, lo que sugiere que las células de levadura en inanición serían menos susceptibles de albergar *H. pylori* intracelular.

Financing: This work was supported by Grant VRID-Enlace 218.036.047-1.0, University of Concepcion, Concepcion, Chile.

Variación de bioaerosoles fúngicos en un quirófano en dos estaciones del año

Ana Acuña², Adriana Nuñez², Cecilia Ortiz², Magdalena Sarmiento², Yadira Rocio Parra González², Gilberto Antonio Benitez Rodas^{1,2}, Cristhian Javier Grabowski Ocampos⁴, Laura Joy Ramirez³, Lucila Gonzalez Donna³, Danilo Fernández Rios², Andrea Alejandra Arrúa^{1,2}

(1) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas CEMIT UNA, Campus San Lorenzo, UNA, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Campus San Lorenzo, UNA, San Lorenzo, Paraguay

(3) Instituto Nacional del Cáncer Prof. Dr. Manuel Riveros (MSPyBS), Ramal Areguá Km 16 y 1/2, Capiatá, Paraguay

(4) Universidad Nacional de Asunción, Protección Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Campus San Lorenzo, UNA, San Lorenzo, Paraguay

Introducción El quirófano, es uno de los lugares en donde debe mantenerse la mayor limpieza y esterilidad teniendo en cuenta que en él se llevan a cabo procedimientos quirúrgicos por lo que la presencia de bioaerosoles podría afectar a los pacientes. Los hongos pueden producir diferentes tipos de trastornos, por lo cual, conocer los niveles de estos patógenos en el quirófano es el primer paso para tomar acciones correctivas. **Objetivos** Determinar la variación de los contenidos de bioaerosoles de un quirófano en dos estaciones del año. **Metodología** Las muestras de bioaerosoles del quirófano fueron recolectadas mediante un muestreador TRIO. BASTMDUO con las siguientes condiciones de flujo, 200 l/min por 5 minutos con tres medios de cultivos: agar sabouraud (AS), agar papa dextrosa (PDA) y agar czapek (ACz) cada muestra por sextuplicado. El muestreo de verano se realizó el 21 de febrero de 2021 de 11:40 a 13:00 hs. y el de otoño el 03 de mayo de 11:35 a 13:25; tomaron datos de humedad y temperatura. Las placas con medio fueron incubadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 5 días, posteriormente se realizó el conteo de UFC (unidades formadoras de colonias). La cantidad de UFC/m³ fue calculada mediante el uso de la fórmula: $\text{Nro. UFC/m}^3 = \text{Nc} \times 1000 / 30 \times \text{Nu}$, donde: Nc= número de colonias por placa y Nu= unidades de tiempo. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el uso del paquete estadístico InfoStat, con el cual se realizó el análisis de varianza mediante el test de test de Tukey con un intervalo de confianza del 95%. **Resultados** La media de UFC en el verano fue de 783 ± 63 , mientras que para el otoño fue de 1271 ± 78 . En el muestreo de verano la humedad fue de 34% y la temperatura de 32°C , mientras que en otoño la humedad fue del 42% y la temperatura de 26.7°C y 65% de humedad. En otoño se observó una mayor presencia de UFC/m³, casi duplicando la cantidad obtenida en verano, esto podría deberse a ciertos factores que afectan el desarrollo y crecimiento de los hongos en ambas estaciones, como el porcentaje de humedad en el ambiente, precipitaciones, viento y temperatura. Durante el muestreo de otoño, la temperatura fue ligeramente inferior a la del verano, pero la humedad relativa fue 50% más alta. Los géneros observados con mayor frecuencia en verano fueron *Cladosporium* spp. y *Rhizoctonia* spp., con menos frecuencia *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp., mientras que en otoño, se presentaron con más frecuencia *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. Estos organismos, comúnmente se encuentran en alimentos en ambientes húmedos, en el suelo etc. y son introducidos al interior por ventilación y circulación de las personas. Con los climas más frescos, las personas tienden a permanecer en ambientes cerrados, utilizan una mayor cantidad de ropa y, por estas razones los niveles de bioaerosoles podrían ser más elevados.

Financing: Fuente de Financiamiento: CONACYT Paraguay, a través Prociencia con los fondos del FEEL. Proyecto 18-513 - Evaluación de bioaerosoles fúngicos en ambientes hospitalarios mediante el análisis del microbioma por secuenciamiento del metagenoma.

Deconvolution of enriched metagenomes in the Apatlaco microbasin, Mexico. New taxogenomic landscapes and phenotype predictions

Ayixon Sánchez Reyes¹, Luz Bretón-Deval¹, Hayley Mangelson², Ilse Salinas-Peralta³, Alejandro Sanchez-Flores⁴, Wendy Méndez Ortega⁵, Erick Alejandro Sánchez Salazar⁶

(1) Cátedras Conacyt-Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Universidad 2001, Chamilpa, 62210 Cuernavaca, Morelos. México.

(2) Phase Genomics Inc, Seattle, Washington, US

(3) Universidad Politécnica del Estado de Morelos, México

(4) Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva y Bioinformática, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México., México

(5) Instituto de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México.

(6) Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, México.

Microbial biodiversity is represented by a variety of genomic landscapes adapted to different environments on earth. These genomic landscapes contain functional signatures related to community phenotypes and diverse species-specific contexts. In this work we explore the microbial diversity landscape in sediments of a river highly impacted by anthropogenic activity in the state of Morelos, Mexico; under conditions of nutritional selection with an anthraquinonic textile dye. With the resulting microbiome, we infer links between predicted biodegradative functions and genomic-metabolic potential; using the information obtained from the reconstruction of individual genomes. For the analysis of the microbiome, we have used the powerful method of proximity ligation deconvolution (Hi-C metagenomic deconvolution), as well as models for taxonomic profiling, functional annotation and metagenomes-wide association analysis. This allowed us to reconstruct 97 genome composites in the sample, of these, about 80% represent potentially new genomes or whose taxonomic position is not clear. The taxon "*Candidatus Afipia apatlaquensis*" is proposed as a new species of the genus (Sánchez-Reyes, et al. Draft genome sequence of "*Candidatus Afipia apatlaquensis*" sp. Nov., IBT-C3, a potential strain for decolorization of textile dyes. BMC Res Notes 13, 265 (2020). The main taxonomic determinants in the Apatlaco sediments belong to the genera *Methanobacterium*, *Clostridium* and *Cupriavidus*, which represent 50, 22 and 11% of the total community profile respectively. The effect of the microbial community on the total organic load was evaluated by determining the chemical oxygen demand after 30 days of culture. The removal of 50% of the chemical oxygen demand was observed with 23% discoloration after 30 days of enrichment. To support the hypothesis that it is possible to connect individual genomic composites with explicit functions within a microbial community under nutritional selection, we applied an association analysis of sequence elements with inferred phenotypes by a metagenome-wide association study. The genes encoding for the enzymes catalase-peroxidase, polyphenol oxidase, and laccase were predicted to be significantly associated with the biodegradation phenotype of textile dyes under the conditions of our study, highlighting the potential of metagenome-wide association studies to predict biodegradable determinants. In conclusion, this study supports rapid genomic screenings to predict phenotypes within complex communities under different environmental pressures. Our results help to understand how nutritional selection modulates local microbial landscapes and promotes adaptive changes at the community level. An extension of this work can be consulted in Sánchez-Reyes, et al. Hi-C deconvolution of a textile dye-related microbiome reveals novel taxonomic landscapes and links phenotypic potential to individual genomes. Int Microbiol (2021).

Financing: This research was partially funded by the program CIENCIA DE FRONTERA FORDECYT-PRONACES, grant number 265222/2020 CONACYT- México.

EVALUATION OF THE LARVICIDAL POTENTIAL OF BACTERIAL EXTRACTS AGAINST URBAN POPULATION OF *Aedes aegypti*

Susana Ochoa Agudelo¹, Claudia Ximena Moreno Herrera², Rafael Jose Vivero Gomez², Gloria Cadavid Restrepo²

(1) Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Antioquia, Facultad Ciencias de la Salud, carrera 78 - 65-46, Medellín, Colombia

(2) Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Antioquia, Facultad de Biociencias, Carrera 65 # 59A - 110, Medellín, Colombia

The secondary metabolites of microbial origin from other insect species are an alternative for biological control of *Aedes aegypti* (vector of arbovirus) against the use of chemical insecticides. This study evaluated the larvicidal activity of 12 bacterial extracts of *Pintomyia evansi* (vector of Leishmaniasis), against *Ae. aegypti* larvae of a natural population of Medellín. In addition, the purpose of identifying the intestinal microbiota of the second and fourth stage larvae of *Aedes*. The percentage of mortality per triplicate of *Ae. aegypti* (L4 larvae) at 24 h was estimated against volumes of 10 μ l and 20 μ l of the 12 bacterial extracts. Larvae susceptible (Rockefeller strain) to organophosphate insecticides and the insecticide Temefos (0.02 ppm) were used as controls. The results showed that mortality rates from 3 % to 40 % in L4 larvae of *Ae. Aegypti* strain Rockefeller against exposure of extracts. Temefos generated 90 % of mortality. Extracts with the highest bioactivity (40 %) were identified for *Lysobacter soli* and *Enterobacter hormaechei*. Both extracts were selected for a second bioassay on a natural population *Ae. Aegypti* of Medellín. Only *E. hormaechei* showed larvicidal activity between 20 % and 40 %. *Enterococcus*, *Bacillus* and *Chryseobacterium* are most frequently in larvae of *Aedes* from Medellín. Some of the microbial extracts evaluated have larvicidal activity against *Ae. aegypti*. Larvae of *Ae. Aegypti* have some bacteria that can have a physiological role in resistance to insecticides.

Financing: Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Universidad Nacional de Colombia,

Diversidad microbiana en sistemas hidrotermales de un bofedal de altura en Chile: una mirada a lo invisible

Sara Cuadros-Orellana⁶, Claudio Quevedo¹, Martha Hengst², Vilma Pérez³, Lisa Nigro⁴, Wade Jeffrey⁴, Yoanna Eissler⁵

(1) Universidad de Talca, Chile., Escuela de Ingeniería Civil en Bioinformática, Facultad de Ingeniería, Ruta 118, Talca, Chile

(2) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Angamos 0610, Antofagasta, Chile

(3) University of Adelaide, Australian Centre for Ancient DNA, School of Biological Sciences, Adelaide SA 5005, Adelaide, Australia

(4) University of West Florida, CEDB/Biology/AIMS, Center for Environmental Diagnostics and Bioremediation, Building 58, Room 70, Pensacola, Estados Unidos

(5) Universidad de Valparaíso, Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Avenida Gran Bretaña 1111, 5° piso, Playa Ancha, Valparaíso, Chile

(6) Universidad Católica del Maule, Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Avenida San Miguel 3506, Talca, Chile

El bofedal de Lirima se ubica en la región de Tarapacá (norte de Chile), ~ 4.100 m s.n.m., cercano al complejo volcánico Aroma-Quimchasata (19°51'24" S, 68° 55'02" W), y alberga un sistema hidrotermal. La diversidad microbiana en las pozas termales de Lirima fue estudiada previamente mediante la secuenciación de amplicones 16S ARNr. En este trabajo, se usó por primera vez metagenómica (shotgun) para estudiar las características funcionales de las comunidades microbianas, en tres pozas diferentes (42°C, 53°C y 72°; pH 8 a 5). De los datos ensamblados, se recuperaron 13 MAGs de alta calidad (completitud >90% y contaminación <5%), que fueron asignados a grupos taxonómicos que ya habían sido detectados como abundantes (ej., *Deinococcus*) o semi-raros (ej., *Thermoproteus*) en los mismos sitios, y otros que no habían sido detectados usando el acercamiento de amplicones; como es el caso de representantes de los géneros *Tepidimonas* y *Allochromatium*, y del filo candidato *Cloacimonetes* (WWE1). El análisis funcional de estos MAGs permite comprender mejor la ecología de estos ambientes termales, en especial la ocurrencia de grupos sintróficos, y la presencia de vías metabólicas de interés para el estudio del origen de la vida, como el ciclo de Krebs inverso. Además, se determinaron diferencias en cuanto a la abundancia y diversidad de sistemas de defensa antiviral (CRISPR-cas y otros), contribuyendo así a relevar la importancia del efecto de los factores ambientales en los elementos promotores de diversidad, como los virus, en estos ecosistemas poliextremos.

Financing: Los autores agradecen a ANID, por el apoyo Fondecyt Regular 1181773, Fondecyt Regular 1211515 y Fondecyt Regular 1201692. Vilma Pérez agradece también la Beca Postdoctorado en el Extranjero, Becas Chile.

Description of the interaction of bioindicators of fecal contamination in Lake Guamuéz: mathematical modeling

Mario Andres Pantoja España¹, Maria Alejandra Marmol Martinez¹, Eduardo Ibarguën Mondragón¹, Miller Cerón Gómez¹, Arsenio Hidalgo Troya¹, Edith Mariela Burbano Rosero¹, Sandra Jaqueline Mena Huertas¹, Jenny Gómez Arrieta¹, Deisy Lorena Guerrero Ceballos¹, Camilo Paz Garcia¹, Pablo Fernández Izquierdo¹

(1) Universidad de Nariño, Nariño, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Clle 18 Cr 50 Ciudadela Universitaria Torobajo, Pasto, Colombia

Lake Guamuéz is the second largest lake in Colombia that economically supports hundreds of families settled in the area, the main activities that they develop have focused on tourism, agriculture, livestock and the production of rainbow trout. The development of these has brought with it a series of consequences that have gradually deteriorated the quality of the water, generating a high impact on this ecosystem. Among these effects, the following stand out: the discharge of wastewater, diffuse contamination from livestock, the use of toxic chemicals in crops and currently, the establishment of floating cages as trout farms. In this sense, this research addresses the study of water quality bioindicators, *Escherichia coli* and somatic coliphages, for which monthly water samplings have been carried out in 9 points of the lake with different degrees of anthropogenic pollution. In situ, the parameters of temperature, pH, ORP, ISE, conductivity, TDS, salinity, resistivity, dissolved oxygen have been determined. In addition, chlorides, phosphates, nitrates, nitrites, and ammonia have also been determined. The samples under refrigeration conditions were taken to the Microbial Processes laboratory of the University of Nariño for microbiological and molecular analyzes. The statistical analysis allowed to determine the physicochemical parameters on the ecological development of the bioindicators, in this way it was possible to establish the existing correlation. Viruses and bacteria are ubiquitous, both constitute extremely abundant and diverse groups in nature and therefore it is of great importance to try to know what their structure is like and how they end up generating interaction dynamics within biological communities. Viruses are a dynamic and functionally important component in ecosystems, their main mechanism of interaction is mediated by bacterial infection, in this sense, a mathematical model was defined by means of a system of ordinary differential equations with fixed delay, said model describes the dynamics of interaction between *E. coli* susceptible to being infected and somatic coliphages in the lytic cycle. For the formulation of the model, the outstanding and transcendent aspects concerning the biological phenomenon were considered, linking model terms to them, among which we can mention latency time, adsorption rate, burst size and death by lysis. The variables selected in the model formulation are *E. coli* susceptible to being infected by bacteriophages, *E*; *E. coli* successfully infected by the virus, *I*; and somatic coliphages with lytic cycle, numerical simulations of the model corresponding to the dynamics before and after the delay time were performed. Terms that describe the interaction prior to lysis are not included in the pre-delay model simulations.

Financing: Thanks to the Ministry of Science, Technology and Innovation (MCTel-Colombia) for the resources for the development of project 110481865200, Contract 80740-517-2019 of the announcement 818- 2018.

Capacidad de formación de consorcios microbianos (levaduras/bacterias) para su utilización en biorremediación

Stefany Serna Toro¹, Fabiana María Lora Suárez¹, Nelsy Loango Chamorro¹

(1) Universidad del Quindío, Programa de Biología, Doctorado en Ciencias, Facultad de Ciencias Básicas y Educación, Carrera 15 Calle 12 Norte, Armenia, Colombia

Introducción: La contaminación por metales pesados es uno de los problemas ambientales más graves que afecta el recurso hídrico a nivel mundial, y necesita soluciones inmediatas. La biorremediación, que incluye la utilización de microorganismos, es una técnica potencial para la desintoxicación de aguas residuales industriales. La utilización de microorganismos resistentes al cromo; permitirá imitar procesos naturales de detoxificación, el proceso es poco invasivo por lo que son ecológicamente compatibles en zonas contaminadas. Además, es de bajo costo [1]. El Cr(VI) debido a su toxicidad representa un serio problema de salud pública, este trabajo busca a través de la biorremediación una alternativa de tratamiento de aguas residuales, donde empleando consorcios microbianos (*Raoultella* sp., *Serratia* sp., *C. tropicalis* y *C. famata*) establece procesos eficientes para la biorreducción de Cr (IV). **Métodos:** Para el estudio se utilizaron bacterias y levaduras resistentes a altas concentraciones de Cr (VI). *Raoultella* sp., *Serratia* sp., *C. tropicalis* y *C. famata*, fueron identificadas a partir de pruebas API 20E (bacterias) y API 20C AUX (levaduras). La activación de los aislados se realizó en medios de cultivos selectivos durante 24 horas a 37.5°C (bacterias) y 48 horas 35°C (levaduras). Posteriormente se cultivó cada cepa en caldo BHI y se determinó el crecimiento microbiano individual y en consorcio. El crecimiento de las cepas y consorcios es monitoreado por DO a 600 nm y las suspensiones de cultivos se compararon con los tubos estándar de turbidez 0,5-1,0 McFarland (1,5 x 10⁸ UFC/mL) [2]. Se realizaron curvas de crecimiento para cada cepa y consorcio. Se utilizó el estadístico Statgraphics Centurión XVI para los cálculos. Todas las pruebas se hicieron por triplicado. **Resultados y discusión:** Se determinó el crecimiento de cada aislado bacteriano sin cromo en medio enriquecido BHI. Se siguió el desarrollo del crecimiento microbiano a 37.5°C durante 24 horas. Se realizó la determinación del crecimiento de los aislados levaduriformes usando medio enriquecido BHI, a 35°C durante 48 horas. En las curvas de crecimiento microbiano se comparó el crecimiento de cada cepa y el crecimiento de cada consorcio microbiano. De manera aseptica se tomaron alícuotas de 1 mL de cada muestra a diferentes tiempos para la medición de biomasa por densidad óptica, ésta se midió en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm. Los microorganismos crecieron de forma adecuada en los medios sólidos establecidos para los 4 microorganismos, el consorcio demostró estabilidad y crecimiento. **Conclusión:** Se realizó de forma exitosa las curvas de crecimiento para la formación de los diferentes consorcios microbianos *Raoultella* sp. *Serratia* sp. *Candida famata* y *Candida tropicalis*, logrando así la sinergia de estos. **Referencias:** [1] Avendaño F. "Biorreducción de Cr (VI) a Cr (III) por bacterias resistentes a cromo aisladas del río Lerma". Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. 2012. [2] N. M. Dogan, C. Kantar, S. Gulcan, C. J. Dodge, B. C. Yilmaz, and M. A. Mazmanci, "Chromium (VI) bioremoval by pseudomonas bacteria: Role of microbial exudates for natural attenuation and biotreatment of Cr (VI) contamination," *Environ. Sci. Technol.*, 2011. **Palabras claves:** biorremediación microbiana, cromo hexavalente, consorcios microbianos

Financing: Este trabajo fue financiado por la Universidad del Quindío, Grupo de Investigaciones GICBE

Pseudomonas aisladas de aguas residuales contaminadas con plomo productoras de pioverdinas

Jessica María Bedoya Vélez¹, Andrés Felipe Villa Restrepo¹, Susana Ochoa Agudelo²

(1) Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología, Cl. 67 #53-108, Medellín, Antioquia

(2) Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. Medellín- Colombia, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera 78 # 65 - 46, Medellín, ANtioquia

Pseudomonas spp. constituye uno de los géneros bacterianos reportados con amplio potencial en la producción de compuestos bioactivos, algunos de estos con capacidad para actuar como supresores de fitopatógenos, estimuladores del crecimiento de plantas e incluso con capacidad de inmovilizar o solubilizar compuestos inorgánicos tóxicos como metales pesados presentes en ambientes contaminados, con la ventaja de que estos pueden constituir una alternativa de uso con menor impacto en la salud y el ambiente. Uno de estos compuestos son los sideróforos que son producidos por algunas especies de *Pseudomonas* y que se caracterizan por ser pigmentos amarillo-verdosos fluorescentes, cuya función biológica está relacionada con la obtención de hierro en el medio, entre las cuales se encuentran las pioverdinas que, por sus características estructurales y bioquímicas, se ha descrito que tienen la capacidad de unirse a otros metales diferentes a hierro. Se sabe que la exposición a metales pesados tóxicos puede favorecer la producción de pioverdinas, lo cual hace factible pensar que aislados tolerantes a estos elementos pueden ser posibles productores de estos sideróforos con potencial aplicación en ambientes contaminados. Con el objetivo de evaluar el efecto del plomo en la producción de pioverdinas por aislados nativos de *Pseudomonas*, se analizaron 15 cepas identificadas previamente como *Pseudomonas* pertenecientes al grupo *fluorescens* aisladas de aguas contaminadas con plomo en una zona expuesta a desechos industriales. A los aislados se les determinó la tolerancia al plomo evaluando la concentración mínima inhibitoria mediante métodos de difusión en disco y cultivo en microplaca utilizando concentraciones de 0.5, 2.5, 5, 25 y 50 mg/mL de $Pb(NO_3)_2$. Posteriormente, se identificó la producción de pioverdinas usando inicialmente medio sólido King B y luego, el mismo medio suplementado con una concentración de 0.5 mg/mL de $Pb(NO_3)_2$. El 100 % de los aislados presentaron niveles de tolerancia al plomo de 0.5 mg/mL de $Pb(NO_3)_2$ y solo 73.3 % toleraron hasta 2.5 mg/mL del metal. Se observó que el 46.7 % de los aislados eran productores de pioverdinas, y que la exposición al plomo incrementó la producción de pioverdina medida por la intensidad de fluorescencia en el cultivo. Los resultados preliminares obtenidos demuestran que cepas nativas del género *Pseudomonas* aisladas de zonas contaminadas con plomo tienen la capacidad de producir pioverdinas y, por tanto, tendrían un gran potencial biotecnológico y de aplicación en ambientes contaminados con metales tóxicos.

MECANISMOS DE RESISTENCIA A ESTRÉS AMBIENTAL EN COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA ISLA DECEPCIÓN EN LA ANTÁRTICA, UNA APROXIMACIÓN BIOINFORMÁTICA.

Felipe Burgos¹, Andrés Santos^{1,2}, Sebastián Arroyo¹, Leticia Barrientos^{1,2}

(1) Universidad de La Frontera, Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional,, Avenida Alemania 0458, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Avenida Francisco Salazar, 01145, Temuco, Chile

Uno de los sectores menos estudiados de la Antártica es la Isla Decepción, zona ASPA que corresponde a un anillo montañoso, formado cerca de 10,000 años atrás. Los ecosistemas antárticos se caracterizan por las condiciones extremas que allí se presentan, donde las bajas temperaturas, alta radiación y estrés oxidativo probablemente han modelado el metabolismo y la adaptación de los microorganismos que allí habitan. Es así, que el objetivo de este estudio fue la identificación de genes de resistencia a estrés ambiental presentes en metagenomas de suelos de la Isla Decepción. Para ellos, cinco muestras tomadas en un gradiente desde la playa hasta el Cerro Decepción, fueron analizadas. Las muestras fueron secuenciadas en la plataforma illumina NovaSeq 6000 2x150pb (Earlham, UK) y posteriormente los metagenomas fueron ensamblados con metaSpades 3.12. La búsqueda de genes de resistencia a antibióticos se realizó con la herramienta Deeparg v2.0 utilizando las bases de datos ARBD y CARD. Para la búsqueda de genes de resistencia a estrés ambiental, se realizó la predicción de regiones codificantes con Prodigal v2.6.3, luego los potenciales genes de resistencia seleccionaron con Hmmscan v3.3 utilizando la base de datos Sargfam v2.0. Posteriormente, estos potenciales genes de resistencia ambiental se anotaron con Diamond v0.9.14 utilizando la base de datos de genes con validación experimental y genes con funcionalidades predichas BacMet v2.0. Los resultados asociados a la búsqueda de genes de resistencia a antibióticos muestran que los principales tipos de resistencia, para las cinco muestras, correspondieron a Truncated Putative Response Regulator ARLR (5-18%), Regulator of MdsABC GOLs (2-11%), Proteína KSGA de Resistencia a la Kasugamicina (3-7%) y ADP-Ribosilante Transferasa ARR (3-11%). La resistencia a estrés ambiental se asoció principalmente a genes de resistencia a metales y ciertos compuestos xenobióticos, donde los principales tipos de resistencia, con validación experimental en BacMet, fueron resistencia a Ni (7-14%), Zn (4-8%) , Dodecilsulfato sódico (5-7%), Cu (4-6%) y Ácido desoxicólico (5-6%). Para el caso de los genes de resistencia a estrés ambiental con funcionalidad predicha en BacMet, se ponen que los principales fueron la resistencia a Bromuro de etidio (8-11%), Tetrafenilfosfonio (4-7%), Ácido desoxicólico (4-6 %), Ag (3-5%) y Zn (3-6%). Estos resultados entregan valiosa información respecto a los tipos de resistencia a estrés ambiental que poseen las comunidades microbianas de la Isla Decepción.

Financing: DI21–2017 de la Dirección de Investigación, Universidad de La Frontera; y Proyecto NXR17-0003, Red de Investigación en Ambientes Extremos.

Estudio de la actividad antimicrobiana de telas con recubrimientos de base sol-gel funcionales

Katerine Igal¹, Romina Arreche², Erasmo Gámez-Espinosa¹, Natalia Bellotti^{1,3}, Patricia Vázquez²

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT)(CONICET-UNLP-CICPBA), Buenos Aires, Argentina

(2) Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas (CINDECA), Buenos Aires, Argentina

(3) Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata., Buenos Aires, Argentina

En las últimas décadas, se le ha dado gran importancia a los textiles antimicrobianos dado que evitan el crecimiento de microorganismos que afectan la salud humana y deterioran el material. Algunos de estos microorganismos generan enfermedades en personas con el sistema inmune comprometido. En este trabajo, se estudió la actividad antimicrobiana de telas con recubrimientos de base sol-gel funcionales. En un primer paso, se evaluó la actividad de las matrices silíceas que contenía los potenciales antimicrobianos, ZnO y ZnO/Ag, mediante el ensayo de actividad antifúngica en placas. Cada placa fue inoculada mediante 20 µl de una suspensión de esporas de 10⁵ esporas/mL y se incubaron en estufa a 28 °C por diez días, se utilizaron dos cepas fúngicas: *Chaetomium globosum* y *Aspergillus niger* obtenidas en trabajos previos a partir materiales biodeteriorados. El ZnO/Ag reportó un mayor porcentaje de inhibición en placa en comparación con ZnO, por lo tanto, fue seleccionado para ser incorporado a las telas. El procedimiento de obtención de las telas antimicrobianas por el método Sol-gel consistió en colocar en un vaso de precipitado una porción del solvente etanol, el catalizador ácido, el precursor tetraortosilicato (TEOS) y el resto del solvente, bajo atmósfera de N₂. Por último, bajo campana de gases, se adicionaron 10 ml de H₂O destilada y el antimicrobiano estudiado. La tela se sumergió durante 1 min, y se dejó secar por una semana. Además, se realizaron entre 1-20 ciclos de lavados con una solución de sodio laurilsulfato 2 g/l durante 15 min por ciclo para evaluar la retención del agente antimicrobiano a la tela. La actividad antifúngica de las telas tratadas con las sílices modificadas fue evaluada frente a las mismas cepas fúngicas utilizadas previamente. Se utilizó el método estándar modificado DIN 53931390. Cada placa se inoculó con 100 µl de la suspensión de esporas de 10⁵ esporas/mL, mediante espátula de Drigalsky para obtener un césped homogéneo de la cepa y se incubaron en estufa a 28°C durante 24 h. Posteriormente, se colocaron las telas tratadas y sin tratar y se incubaron en estufa 28°C durante 14 días. También, se evaluó la actividad antibacteriana de las telas mediante el método de difusión en medio agarizado (SN 195920-1992), utilizando *Escherichia coli* (ATCC 11229) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) por estar relacionadas con patologías que afectan la salud humana. Se prepararon placas con 15 ml del medio de cultivo y se inocularon con una suspensión bacteriana de 1,5x10⁶ UFC/mL mediante hisopado. Por último, se agregaron las telas tratadas y sin tratar. Las placas se incubaron durante 24 h a 37°C. Ambas cepas fúngicas fueron inhibidas en su crecimiento sobre las telas con ZnO/Ag mostrando gran diferencia con los controles. En el caso de las cepas bacterianas se pudo observar halos de inhibición alrededor de las telas que contenían ZnO/Ag exhibiendo claramente la interfaz de tela-medio de cultivo- crecimiento bacteriano en comparación con la tela control.

Financing: Financiación Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CICPBA), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) and Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Argentina.

Inhibición del crecimiento de *Microcystis aeruginosa* y degradación de la cianotoxina microcistina LR por extractos de microorganismos del continente antártico

Gabriela Sosa Benegas¹, Suzan Prado Fernandes Bernal¹, Valéria Maia de Oliveira², Michel Rodrigo Zambrano Passarini¹

(1) Universidad federal de Integración Latinoamericana - UNILA, Biotecnología ambiental, Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y la Naturaleza, Av. Tarquinio Joslim dos Santos Nro 1000, Foz do Iguaçu, Brasil

(2) Universidad Estatal de Campinas, CPQBA/UNICAMP, Divisão de Recursos Microbianos, Rua Alexandre Caselatto 999, Vila Betel, CP 6171, Campinas, Brasil

Las proliferaciones masivas de cianobacterias son comunes en cuerpos de agua superficial en todo el mundo, siendo causantes de efectos adversos en ecosistemas acuáticos y la salud pública. Numerosas son las especies que desarrollan floraciones algales, correspondiendo la mayoría de ellas a la cianobacteria productora de microcistinas *Microcystis aeruginosa*. Entre los métodos utilizados para mitigar su desarrollo, han sido utilizados microorganismos ambientales con efectos alguicidas. Sabiendo que los microorganismos de ambientes antárticos son considerados fuente poco explorada de compuestos antimicrobianos, y datos acerca de su actividad contra cianobacterias son escasos o inexistentes, la búsqueda de propiedades alguicidas, resulta prometedora. Este estudio tuvo como objetivos la evaluación de la capacidad de bacterias Antárticas de inhibir el crecimiento de *M. aeruginosa* BCPUSP232 y de degradar microcistina-LR (MC-LR). Extractos acelulares de setenta y seis cepas bacterianas fueron inicialmente testadas en búsqueda de actividad alguicida. Las cepas no identificadas (UN) 62 y ES7, y *Psychromonas arctica* (ESH2-38) fueron capaces de inhibir el crecimiento de *M. aeruginosa*. Ocho cepas presentaron valores de MIC en el rango de 0.55 a 3.00 mg. mL⁻¹, donde ES7 presentó la mejor actividad alguicida. *Arthrobacter* sp. 443 y UN 383 fueron las más eficientes degradando MC-LR, con 24.87 y 23.85%, respectivamente. Para nuestro conocimiento, estos datos representan el primer reporte de actividades alguicidas y de degradación de MC-LR por bacterias antárticas. Los resultados del presente estudio abren perspectivas para la futura aplicación como alternativa biotecnológica de biorremediación para mitigar las floraciones de cianobacterias y degradar microcistinas (MC-LR).

Aislamiento e identificación de *Bacillus hornekliae*: Potencialidades para su uso en la evaluación de biocidas en pintura líquida

Leyanet Barberia Roque¹, Guillermo Pablo Lopez¹, Marisa R. Viera^{1,2}, Natalia Bellotti^{1,3}

(1) Centro de Investigación y Desarrollo de Tecnología en Pinturas: CIDEPINT (FI-UNLP, CICPBA, CONICET), La Plata, Buenos Aires, Argentina

(2) Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, La Plata, Buenos Aires, Argentina

(3) Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, La Plata, Buenos Aires, Argentina

El género *Bacillus* está integrado por bacterias grampositivas de morfología bacilar, movilidad flagelar y tamaño variable (0.5 a 10 μm). Son bacterias aerobias y anaerobias facultativas, de nutrición saprófita cuyo crecimiento óptimo ocurre a temperaturas entre 30 y 45 °C y pH neutro, por lo que son ubicuas. Generalmente son aisladas de suelos con alta disponibilidad de materia orgánica. Debido a su versatilidad metabólica se relacionan con la promoción del crecimiento vegetal y el control de plagas. Varias especies tienen relevancia clínica. Son formadoras de endospora y debido a esta estructura de resistencia han sido encontradas colonizando ambientes extremos. Esta especie ha sido reportada también como contaminante de frascos de pintura. La norma D2574 contempla el estudio de biocidas para evitar la colonización y biodeterioro de pinturas envasadas. Su aplicación permite evaluar la efectividad y la comparación entre productos con función antimicrobiana. Los microorganismos que recomienda la norma pertenecen a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* debido a las características fisiológicas que comparten estos géneros entre sí. Los objetivos de este trabajo fueron aislar e identificar, mediante elementos de taxonomía polifásica, el principal contaminante viable y cultivable de una pintura comercial acuosa visiblemente biodeteriorada. Además, evaluar las potencialidades del microorganismo para su uso como indicador de efectividad de biocidas mediante modificaciones de la norma D 2574. Una pintura comercial visiblemente biodeteriorada, se sembró en placas con los medios de cultivo LB y TSA. Las mismas se incubaron, por períodos de entre 24 horas y 7 días para cultivar también microorganismos de crecimiento lento. Se aisló la cepa predominante y se realizó un estudio fisiológico, mediante pruebas bioquímicas junto a tinción de Gram y observación al microscopio, para observar la morfología y comprobar la pureza y homogeneidad de los aislados. Para completar la identificación de la cepa, se realizaron pruebas bioquímicas, basadas en el manual de Bergey para la identificación de cepas bacterianas. Luego se realizó la amplificación y secuenciación de la región que codifica para el ARNr 16S y se analizó la secuencia por BLASTn. Luego, se realizaron ensayos donde se estandarizaron las condiciones de cultivo para demostrar las potencialidades de crecimiento del aislado en pinturas líquidas obtenidas en el CIDEPINT con y sin aditivos antimicrobianos (BP15 comercial y nanopartículas de plata obtenidas en trabajos previos) y evaluar el crecimiento del aislado bacteriano estudiado. Se identificó un único aislado a partir de los métodos empleados. Se comprobó su forma bacilar y su respuesta a tinción como bacteria grampositiva. La cepa cultivable predominante en los aislamientos realizados fue identificada mediante secuenciación con un 99% de homología como *Bacillus hornekliae*, y la secuencia obtenida quedó registrada en GenBank como SUB6223917.190822-025_A19_F1_907R.ab1 MN381947. Se demostró la capacidad de la cepa para crecer a las 24 horas de incubación a 30 °C en medios ricos como LB, TSA y a los 7 días bajo las mismas condiciones en la pintura líquida ensayada. La cepa evidenció un crecimiento diferencial e incluso total inhibición en las mismas condiciones ante la presencia de las nanopartículas de plata.

Potenciales hongos micotoxigénicos aislados en estudios de aeromicología en ambientes internos del Módulo de Bioquímica y Farmacia de la FCEQyN - UNaM

Maximiliano Gabriel Gómez¹, Emiliano Lautaro Gomez Quintero¹, Lidia Sabina Rodríguez¹, Gladis Jerke¹, Marta Aurelia Horianski¹

(1) Módulo de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Microbiología Licenciatura en Genética, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales - Universidad Nacional de Misiones, Mariano Moreno 1375 (CP 3300), Posadas, Argentina

Las micotoxinas, metabolitos tóxicos de bajo peso molecular (<1kDa) producidos por los hongos, causan micotoxicosis, la que puede darse por ingestión, exposición dérmica o inhalatoria. A la fecha, se han identificado unas 400 micotoxinas, clasificadas como hepatoxinas, nefrotoxinas, neurotoxinas, etc. Su producción depende de multitudes de factores como temperatura, pH, luz, humedad, atmósfera, entre otros. Los géneros fúngicos productores de micotoxinas más importantes son *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Fusarium*, mohos que son aislados frecuentemente en ambientes interiores. Además son géneros con potencial micotoxigénico *Cephalosporium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Cylindrocarpon*, *Eurotium*, *Memnoniella*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Stachybotrys*, *Talaromyces*, *Trichoderma* y *Wallemia*, entre otros. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la incidencia de mohos pertenecientes a géneros potencialmente micotoxigénicos aislados del aire de laboratorios del Módulo de Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de Misiones. Durante otoño de 2017, invierno y primavera de 2018 y verano de 2019, se tomaron muestras por triplicado del aire atmosférico de los laboratorios 101, 202 y 203 (L101, L202, L203), del Módulo de Bioquímica y Farmacia, utilizando el método pasivo de sedimentación en placas de Petri con Agar Papa Dextrosa/Rifampicina colocadas a 1–1,5 m de altura, abiertas durante 15 min. Los hongos aislados se identificaron mediante descripciones macro/microscópicas y claves taxonómicas. De los aislamientos fúngicos se identificaron géneros potencialmente micotoxigénicos como: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Stachybotrys*, *Talaromyces* y *Trichoderma*. La densidad relativa (DR) de estos mohos fue superior al 65% en los tres ambientes durante el invierno (L101>L202>L203), entre 31-46% en otoño (L203>L101>L202), entre 28-41% en verano (L203>L202>L101) y 15-27% en primavera (L203>L202>L101). Los géneros de mayor DR en primavera fueron *Cladosporium* y *Alternaria*, en verano: *Cladosporium* y *Aspergillus*, en otoño: *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium* y en invierno: *Cladosporium* y *Alternaria*. Mientras que *Chaetomium*, *Cylindrocarpon*, *Paecilomyces*, *Stachybotrys* y *Talaromyces* tuvieron una DR anual <1%. La mayor diversidad fúngica, en los ambientes evaluados, se observó en otoño (7-9 géneros) seguido de invierno (3-7 géneros), verano (3-6 géneros) y primavera (3-4 géneros). Estos resultados concuerdan con los reportados por otros autores, en que los géneros *Cladosporium* y *Aspergillus* son aislados más frecuentemente, con picos de DR presentados en invierno para *Cladosporium* y en verano para *Aspergillus*; La DR de *Alternaria* disminuye cuando *Aspergillus* está presente, quizás debido a una inhibición de crecimiento. Si bien, la exposición por inhalación a esporas y fragmentos de hifas puede causar directamente enfermedades alérgicas, infecciosas y tóxicas, la producción de micotoxinas es dependiente de una multitud de factores, por lo que es probable que la contribución al desarrollo de patrones de enfermedades por parte de ellas, sea indirecta, como consecuencia de sus efectos sobre células pulmonares. Dado que se hallaron 12 géneros considerados micotoxigénicos existe un potencial riesgo para la salud dejando en evidencia la necesidad de realizar controles aeromicológicos de modo periódico.

Financing: Beca CIN (Consejo Interuniversitario Nacional -Argentina-) convocatoria becas EVC 2019 (Programa de Becas de Estímulo a las Vocaciones Científicas) . Resolución CE No. 1518/20.

Biosurfactantes microbianos en la protección de los recursos hídricos: revisión.

Andrés Huenchupan¹, Claudio Lamilla², Marcela Levío³, Gerard Grandjean⁴, María Cristina Diez⁵

(1) Universidad de La Frontera, Biotecnología, Ciencias Agropecuarias y forestales, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(2) Universidad de La Frontera, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(3) Universidad de La Frontera, Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(4) Universidad de La Frontera, Ingeniería Civil Industrial Mención Bioprocesos, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

(5) Universidad de La Frontera, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Francisco Salazar 01145, Temuco, Chile

Los recursos hídricos son de gran importancia para nuestro planeta. De un total de 1386 millones de kilómetros cúbicos de agua, el 97,5% corresponde al agua salada y solo un 2,5% es agua dulce. Este porcentaje de agua dulce se reduce a una fracción más pequeña para el consumo humano. Las actividades antropogénicas, han causado la contaminación de los RH, generando graves daños al medioambiente, a los ecosistemas acuáticos, a la salud humana y pérdida de la calidad del agua y la biodiversidad. Existen muchas actividades (agrícolas, industriales, etc.) que afectan al recurso hídrico. Una de alto impacto en Latinoamérica es la minería, asociado a la presencia de metales pesados como cadmio, zinc, cobre, arsénico, cromo, plomo y níquel, los cuales contaminan ríos, lagos, lagunas y el mar. Los productos farmacéuticos también son un foco de contaminación, donde la principal vía de contaminación son las descargas de aguas servidas. Los hidrocarburos de petróleo también han causado graves daños al ecosistema, producto de derrames causados accidentalmente. Los plaguicidas han sido utilizados en los últimos años en la agricultura para una mayor producción y protección de los cultivos, pero el uso indiscriminado de este tipo de compuestos ha ocasionado contaminación de suelos y aguas subterráneas y superficiales. Para minimizar o eliminar los efectos de estos contaminantes, el uso de biosurfactantes (BS) ha cobrado interés en los últimos años, debido a la naturaleza química de este tipo de compuestos lo cual es un factor fundamental para la recuperación de sitios contaminados. El objetivo de este trabajo es recopilar información reciente sobre los BS con aplicación en la biorremediación del recurso hídrico contaminado. La metodología empleada fue la selección bibliográfica disponible a través de base de datos como PubMed, Web of Science, SciELO, ScienceDirect, utilizando las siguientes palabras claves: "biosurfactantes", "surfactantes", "degradación" y "biorremediación", "recurso hídrico" entre los años del 2016 y 2021. Los resultados mostraron que existen alrededor de 1.644 publicaciones relacionadas con BS, donde 380 artículos se relacionan con los conceptos de "degradación", "biorremediación" y el "recurso hídrico". Estos resultados, nos demuestran la importancia actual de los BS en el mundo académico de distintas aplicaciones en especial en la biorremediación donde el 23 % de los artículos exponen esa aplicación. De los estudios revisados se destacan los BS producidos por *Pseudomona aeruginosa*, con aplicación en la biodegradación de hidrocarburos, metales pesados y plaguicidas, como también el BS surfactina producido por *Bacillus sp* con aplicación en biodegradación de metales pesados presentes en agua contaminadas. Los BS se han convertido en una alternativa real para aumentar la biodisponibilidad de los contaminantes para la biorremediación, que han ingresado a los ecosistemas producto de la acción humana, en especial los que afectan el recurso hídrico y el medioambiente, para una posterior biorremediación.

Financing: Agradecimientos: Los proyectos ANID/FONDAP/15130015, FONDECYT 3190918, FONDECYT 1211738, DIUFRO DI21-2015.

INTERACCIÓN HUÉSPED - PATÓGENO

IRE-1 ALPHA INHIBITION IN HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 1 OR HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 2-INFECTED DENDRITIC CELLS PROMOTES CELL SURVIVAL AND T CELL ACTIVATION.

Eduardo Tognarelli¹, Mónica A. Farías¹, Angello Retamal-Díaz¹, Luisa F. Duarte¹, Alexis Kalergis¹, Susan Bueno¹, Pablo A. González¹

(1) Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Santiago, Chile.

Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) infections are highly prevalent worldwide and pose a significant burden to healthcare systems since they are capable of persisting throughout an individual's life, either symptomatically or asymptotically. Both viruses may produce diverse clinical manifestations, from mild skin and mucosal lesions to severe symptoms, such as blindness and life-threatening encephalitis. Evidence suggests that these viruses possess a myriad of components which are key to hamper the establishment of antiviral innate and adaptive immune responses, impeding their function and limiting viral clearance. Importantly, HSVs infect and negatively modulate dendritic cell (DC) function, impacting the role of these crucial immune cells that initiate and coordinate effective antiviral immune responses against viral infections. We have recently reported that HSV-2 may modulate the unfolded protein response (UPR) in DCs, through the Inositol-Requiring Enzyme 1 alpha (IRE-1 α) pathway. Here, we sought to evaluate if the pharmacological inhibition of IRE-1 α could enhance the function and viability of HSV-infected DCs. We treated DCs with the IRE-1 α endonuclease inhibitors 4 μ 8c or MKC-3946 and control vehicle (DMF), followed by HSV-1 (KOS), or HSV-2 (G) infection. DCs were collected and analysed for infection and viability. We determined PFU production in the supernatants of HSV-infected DCs by titration over Vero cell monolayers. Cell viability was assessed independently by flow cytometry and by measuring caspase-3 activity using Ac-DEVD-AFC and fluorescence emission in a multi-mode plate reader. Moreover, we performed co-culture assays with 4 μ 8c or MKC-3946-treated HSV-infected DCs collected 6 h post-inoculation (hpi) with HSV-specific T cells, either gBT-I CD8⁺ or gDT-II CD4⁺ T cells. T cell activation and differentiation were determined by ELISA to measure IL-2 in co-culture supernatants and by flow cytometry. We found an increase in DC viability and activation capacity of virus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells after 4 μ 8c or MKC-3946 treatment and HSV-1 or HSV-2 infection. Taken together, these results highlight the relevance of the IRE-1 α -dependent UPR pathway in HSV-infected DCs, which negatively modulates DC function upon HSV infection. Our results suggest that HSV induces the IRE-1 α pathway in DCs to reduce cell viability and antigen presentation to virus-specific CD4⁺ or CD8⁺ T cells and that modulating this pathway could provide hints for new antiviral strategies targeting this process in HSV-infected DCs.

Financing: Authors are supported by the Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy (P09/016-F; ICN09_016, ANID, Chile) and FONDECYT grants #1190864, #1161525, #1170964 and #1191300 from the Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID, Chile).

Características clínicas y epidemiológicas de la Endocarditis infecciosa en pacientes del Hospital Central del Instituto de Previsión Social. 2016-2019

Gabriela Jazmin Benitez Villasanti¹

(1) Hospital Central del Instituto de Previsión Social, Central, Universidad Católica de Asunción, -, Asunción, Paraguay

**Mareco González W, *Martínez Espinola L, *Espinola González O, *Benitez Villasanti G, *Godoy Giménez M. *Residentes de Medicina Interna del Hospital Central del Instituto de Previsión Social. Introducción: La Endocarditis infecciosa, resultado de una colonización del endotelio valvular, es una enfermedad poco común, pero altamente letal que requiere un abordaje integral en torno al tratamiento. Objetivo: Determinar características clínicas y epidemiológicas de la Endocarditis infecciosa en pacientes internados en el Hospital Central del Instituto de Previsión Social, en el periodo comprendido entre el 2016 y 2019. Material y Método: Estudio observacional, descriptivo y de corte transversal. Resultados: La mediana de edad fue de 65 años, el 71% es de sexo masculino y el 50,5% del área urbana. El motivo de consulta más frecuente fue la fiebre en el 59.1%, la comorbilidad más frecuente es la hipertensión arterial con el 78.5%, el 41.9%, utiliza algún dispositivo endovascular. La válvula nativa fue la más afectada 90.3%, lugar anatómico más frecuente es la válvula aórtica 38.7% y tamaño de vegetación mayor o igual a 10 mm. Los hemocultivos fueron positivos en el 76.3%, de los cuales los gérmenes más comunes fueron los gram positivos 75.9%. La mortalidad hospitalaria hallada fue 24.7%. Conclusiones: La Endocarditis infecciosa sigue siendo una patología con alta tasa de mortalidad, las válvulas mayormente afectadas son las nativas, la válvula aórtica es el lugar más frecuente de localización de las vegetaciones, la mayoría de los gérmenes aislados en hemocultivos son gram positivos. Palabras clave: Endocarditis, válvulas cardíacas, etiología.

Financing: Financiación propia

Pharmacological induction (U18666A) of Niemann-Pick disease increases the resistance of salmon Atlantic macrophages to *Piscirickettsia salmonis* infection

Andrea Talamilla^{1,2}, Madelaine Mejías^{1,2}, Liliana Montt^{1,2}, Javiera Pérez^{1,2}, Francisca Vera^{1,2}, Luis Valenzuela^{1,2}, Ignacio Chávez^{1,2}, Dinka Mandakovic^{1,2,3}, Graciela Arguello⁴, Christian Hödar⁵, Rodrigo Pulgar^{1,2}

(1) Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas (LG2IB). Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile.

(2) Center for Research and Innovation in Aquaculture (CRIA), Universidad de Chile, Santiago, Chile.

(3) GEMA Center for Genomics, Ecology and Environment, Universidad Mayor, Camino La Pirámide 5750 Huechuraba, Santiago, Chile.

(4) School of Health Sciences, Universidad Católica del Maule, Talca 3466706, Chile.

(5) Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica (LBEG). Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile.

Piscirickettsia salmonis (*P. salmonis*) is an intracellular pathogen, that generates high mortality rates. To solve this problem, antimicrobials and vaccines are used, however they are not effective. On the other hand, changes in diet used in aquaculture, that replaced marine by vegetable ingredients, with different cholesterol content, generated interest to study the diet effect on cholesterol homeostasis and immune function. Cholesterol is an essential molecule that exerts pleiotropic actions. Alterations in cholesterol homeostasis can have severe consequences. For instance, Niemann Pick lethal disease which is caused by mutations in genes encoding the proteins NPC1 or NPC2, that bind cholesterol, essential for lysosomal membrane integration. This disease can be induced by the drug U18666A, which binds to the NPC1 protein and blocks the movement of cholesterol out of the lysosome. Niemann–Pick (NPC1) disease confers adaptive advantages in the face of specific infectious diseases. Also, several bacterial species can manipulate host cholesterol during infection. In this context, we attempted to pharmacologically induce an NPC1 disease phenotype in salmon cell lines to determine its effect on *P. salmonis* infection and analyzed the metabolic pathways affected by the drug. For this, we treated salmon macrophage cells (SHK-1 cells) with U18666A and determined intracellular cholesterol levels and its subcellular localization. Then we determined the effect of the drug on *P. salmonis* infection by evaluation of cytopathic effect and bacterial count. Finally, we performed RNAseq to further characterize the effect of the drug on the cells. We found that, in cells treated with U18666A cholesterol levels were increased and that it accumulates in the lysosomes, inducing a Niemann–Pick disease-like phenotype and that infection by *P. salmonis* was reduced. Finally, we found that genes involved in ferroptosis were induced after treatment with the drug. This study gives insights into a potential effective host-directed therapy based on manipulation of host cholesterol with a dietary strategy to combat infections in salmonid industry.

Financing: Proyecto ENLACE FONDECYT VID 2020, N° 989/2020. Institución: Universidad de Chile (VID)

PÉPTIDOS DERIVADOS DE PROTEÍNAS PRESENTES EN LA ENVOLTURA DE *Mtb* H37Rv ESTÁN INVOLUCRADOS EN LA INTERACCIÓN HOSPEDERO-PATÓGENO

Mary Lilián Carabalí-Isajar^{1,2}, Marisol Ocampo^{1,3}, Deisy Carolina Rodríguez¹, Magnolia Vanegas¹, Hernando Curtidor^{1,3}, Manuel Alfonso Patarroyo^{1,4,5}, Manuel Elkin Patarroyo^{1,4}

(1) Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC), Tuberculosis, Carrera 50 No. 26–20, Post Code: 111321, Bogotá, Colombia

(2) Universidad del Rosario, Carrera 24 No. 63C-69, Post Code: 111321, Bogotá, Colombia

(3) Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Carrera 3#26A–40 POST code 110311, Bogotá, Colombia

(4) Universidad Nacional de Colombia, Carrera 45 No. 26-85, Post Code: 11001, Bogotá, Colombia

(5) Universidad Santo Tomás, Carrera 9#51-11, Bogotá, Colombia

Introducción Tuberculosis causa mundialmente millones de muertes (WHO, 2019). BCG es la única vacuna, pero no previene la enfermedad en adultos. Por lo tanto, se siguen buscando antígenos candidatos para una vacuna. En este trabajo se usó una metodología lógica y racional para encontrar tales antígenos, péptidos de proteínas de la micobacteria. Metodología Se evaluó la presencia y transcripción del gen que codifica para la proteína Rv3587c en *Mtb*, se sintetizaron sus péptidos (Houghten et al., 1985) y se evaluaron elementos de estructura secundaria por DC, se hicieron ensayos receptor-ligando, evaluándose en péptidos de alta unión, la capacidad de inhibir la entrada del patógeno a células hospederas. Resultados In silico la proteína se localizó en la superficie de la micobacteria, esta se encontró conservada en las micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, el DC permitió determinar los elementos de estructura correspondientes en su mayoría alfa hélices. De los péptidos evaluados en la interacción receptor-ligando (de Jong et al., 2005), 8 HBP inhibieron la entrada de la micobacteria a células hospederas, dos de ellos fueron 39265 (155VLAAYVYSLDNKRLWSNLDT173) y 39266 (174APSNETLVKTFSPGEQVTTY192) siendo comunes para ambas líneas celulares. Adicionalmente en un ensayo de ELISA, los péptidos 39265 fueron los menos reconocidos por los anticuerpos de los sueros de los individuos evaluados en cada grupo con Tuberculosis latente, activa y sanos, así los péptidos 39265 y 39266 deberían convertirse en antígenos candidatos para una vacuna eficaz contra la tuberculosis, ya que son importantes para el ingreso de la micobacteria a células hospederas resta modificarlos para hacer de estas secuencias más inmunogénicas. Referencias WHO. (2019) World Health Organization. Global tuberculosis report 2019. Houghten, R. A. General method for the rapid solid-phase synthesis of large numbers of peptides: specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual amino acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1985. 82, 5131-5135. de Jong, L. A., Uges, D. R., Franke, J. P., and Bischoff, R. Receptor-ligand binding assays: technologies and applications. *Journal of chromatography B: Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. 2005. 829, 1-25.

Financing: Instituto de Innovación en Ciencia, Tecnología de Colombia “Francisco José de Caldas” (COLCIENCIAS) mediante contrato 0732016.

Enviado por: Antonio Marcos Rodrigues Pereira

Envolvimento do Sistema Purinérgico na fisiopatologia da hanseníase

Antonio Marcos Rodrigues Pereira¹, André Alves Dias¹, Thyago Leal-Calvo², Chyntia Carolina Díaz Acosta³, Maria Cristina Vidal Pessolani¹, Marcia de Berrêdo Pinho Moreira¹

(1) Laboratório de Microbiologia Celular, IOC/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

(2) Laboratório de Hanseníase, IOC/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

(3) Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

Introdução: A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *M. leprae*, um patógeno intracelular obrigatório. Os pacientes com hanseníase são classificados em paucibacilares e multibacilares de acordo com diferentes parâmetros, como o número de lesões. Os pacientes paucibacilares são caracterizados com poucas lesões, bem como uma resposta imune capaz de controlar a proliferação do patógeno. Em paralelo, os pacientes multibacilares apresentam a forma mais grave da doença, com múltiplas lesões e uma resposta imune insuficiente, incapaz de conter o progresso da doença. Embora o patógeno tenha um nicho preferencial voltado para células de schwann e macrófagos da pele, atualmente é conhecido a capacidade do bacilo em infectar diferentes células, porém, o envolvimento dos monócitos neste contexto não tem sido totalmente esclarecido. Em estudos já publicados, nosso grupo identificou que a infecção pelo *M. leprae* induz a formação de corpúsculos lipídicos (CLs), organelas estas ricas em colesterol, essenciais para a viabilidade do patógeno. Além disso, a literatura reforça que o receptor de ADO A2A está envolvido com a diminuição dos níveis intracelulares de colesterol. No entanto, o envolvimento do sistema purinérgico na infecção pelo *M. leprae* ainda não foi investigado. **Métodos:** Monócitos humanos derivados de sangue periférico de indivíduos sadio foram obtidos por centrifugação usando Fycoll-Hypaque. O perfil de células positivas para A2A e ADA foi obtido por citometria de fluxo, e o efeito do agonista específico do receptor A2A (CGS21680) e antagonista (ZM241385) na formação de CLs foi avaliado por microscopia de fluorescência. Além disso, dados de microarray foram recuperados de 43 biópsias de pele depositadas por Belone e colaboradores, disponíveis na plataforma Gene Expression Omnibus (GEO) sob o número de acesso GSE74481, para investigar possíveis modulações na expressão de ADA, ENTPD1, ADORA2A e NT5E. Após a normalização, a análise de variância (ANOVA) seguida de Tukey HSD foi utilizada para testar as diferenças entre os grupos de indivíduos sadios (n = 9), hanseníase paucibacilar (PB, n = 20) e hanseníase multibacilar (MB, n = 14). **Resultados:** A adenosina foi capaz de diminuir a formação de CLs nas células infectadas e esse efeito está associado com a ativação do receptor A2A. Dados de expressão gênica de biópsias de pele recuperados do banco de dados demonstraram o envolvimento de diferentes componentes purinérgicos em ambos os polos da hanseníase. **Conclusão:** Diferentes componentes purinérgicos estão envolvidos na fisiopatologia da hanseníase. Além disso, foi demonstrado a participação do receptor A2A na modulação de eventos potencialmente desfavoráveis ao estabelecimento da infecção.

Financing: Suporte financeiro: FIOCRUZ/IOC; CAPES, CNPq e FAPERJ

Uncovering a common gene core between *R. solanacearum* strains UW163, IBSBF1503 and UY031 during the infection process in different plant hosts.

Cristian Grisales Vargas¹, Margarita Valderrama Maya², David Borrego Muñoz³, Geysson Fernández García², Juan Esteban Pérez Jaramillo¹

(1) Universidad de Antioquia, Unidad de Bioprospección y Estudios de Microbiomas (UBP), PECET, Facultad de Medicina, Cl. 62 #52-59, Medellín, Colombia

(2) Universidad EAFIT, Escuela de Ciencias, Carrera 49, Cl. 7 Sur #50, Medellín, Colombia

(3) Universidad de Antioquia, Grupo de Bacteriología Agrícola y Ambiental (BA&A), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Calle 67 N° 53 - 108, Medellín, Colombia

Ralstonia solanacearum is one of the most lethal pathogenic plant bacteria worldwide, infecting more than 200 plant hosts from up to 50 botanical families. Recent studies suggest that some *R. solanacearum* strains have a common gene core during the infection process in the same plant host. However, this common gene core has not been studied during the infection process in different plant hosts. Additionally, its functions and genomic locations have not been studied either. Here, we have performed an RNA-Seq analysis of public datasets (Bioproject PRJNA297400, PRJNA297402, and PRJNA358831) of *R. solanacearum* strains UW163, IBSBF1503 and UY031 during the infection process in different plant hosts (tomato, potato, banana, and melon). Remarkably, we have found that these *R. solanacearum* strains had 15 common expressed genes (common gene core) during the infection process in different plant hosts. This common gene core was mainly associated with functions such as carbohydrate catabolism and transport, nitrosative stress, and aerobic respiration. Also, we found that 67% of this common gene core was located in the megaplasmid. This finding supports the occurrence of pathogenicity genes in genomic locations such as plasmids. Taken together, we showed that there is a common gene core of *R. solanacearum* strains UW163, IBSBF1503 and UY031 during the infection process in different plant hosts and that this common gene core may be targeted for the control of *R. solanacearum* strains in different plant hosts.

Identificación de un nuevo efector con un dominio serina/treonina quinasa del Sistema de Secreción del Tipo III (T3SS2) de *Vibrio parahaemolyticus*

Nicolás Plaza^{1,2}, Ítalo M. Urrutia², Katherine García¹, Matthew K. Waldor^{3,4,5}, Carlos J. Blondel²

(1) Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, Chile

(2) Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

(3) Division of Infectious Diseases, Brigham & Women's Hospital, Boston, Massachusetts, USA

(4) Department of Microbiology, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA

(5) Howard Hughes Medical Institute, Boston, Massachusetts, USA

Vibrio parahaemolyticus es un patógeno marino zoonótico capaz de producir diarrea acuosa aguda y es la principal causa de gastroenteritis asociada al consumo de mariscos en todo el mundo. Las cepas derivadas del clon pandémico poseen dos Sistemas de Secreción de Tipo III (T3SS1 y T3SS2, por sus siglas en inglés). Estas nanomáquinas proteicas han evolucionado para interactuar con las células eucariontes, mediante el transporte de proteínas efectoras al citosol, con el fin de perturbar las vías de señalización del hospedero. El T3SS2 está codificado en la isla de patogenicidad VPAl-7 y es uno de los principales factores de virulencia de la especie. Hasta la fecha sólo se han identificado 10 efectores del T3SS2, existiendo aún 29 proteínas hipotéticas que podrían codificar nuevos efectores. Análisis bioinformáticos realizados en nuestro laboratorio revelaron la presencia del ORF VPA1328, el cual codificaría un nuevo efector del T3SS2 con homología al efector VopG de *Vibrio cholerae*, cuya función es desconocida. Para determinar si VPA1328 es un efector secretado y translocado por el T3SS2, construimos una fusión génica entre VPA1328 y el dominio activo de la adenilato ciclasa (CyaA) del plásmido pCyaA. La fusión VPA1328-CyaA nos permitió detectar la secreción de VPA1328 al sobrenadante de cultivo mediante inmunodetección y su translocación a células Caco-2 mediante la cuantificación de cAMP por ELISA, cuando el T3SS2 se encuentra activo. Interesantemente, posteriores análisis bioinformáticos nos permitieron determinar la presencia de homólogos de VPA1328 en múltiples especies de *Vibrio* y en *Shewanella*. Todos estos homólogos poseen un extremo C-terminal conservado a nivel de secuencia aminoacídica. Análisis más detallados por alineamiento múltiple de secuencias, reconstrucción filogenética y modelamiento por homología del extremo C-terminal de VPA1328, destacaron la similitud y la presencia de los aminoácidos esenciales del dominio serina/treonina quinasa de la familia de efectores NleH, sugiriendo una potencial actividad catalítica a este nuevo efector. Se ha demostrado que los efectores de la familia NleH inhiben la secreción de interleuquina 8 (IL-8) y promueven la supervivencia celular en el contexto de infección. Con el fin de determinar si VPA1328 contribuye a estos procesos, se generó una cepa mutante del ORF VPA1328 y se realizaron ensayos de infección en células Caco-2 y HeLa. Nuestros experimentos no lograron demostrar una contribución de VPA1328 en la muerte celular y/o en la inhibición de la secreción de IL-8, inducida por el T3SS2 de *V. parahaemolyticus* en estas líneas celulares. Lo que sugiere que este nuevo efector podría participar en la perturbación de otros procesos celulares. Sin embargo, no es posible descartar totalmente su participación en la muerte celular y/o en la secreción de IL-8, especialmente porque puede existir redundancia funcional con otros efectores del T3SS2 de *V. parahaemolyticus*.

Financing: (HHMI)-Gulbenkian International Research Scholar 55008749, FONDECYT 1201805 y REDI170269 (ANID) (C.J.B). FONDECYT 3200874 (ANID) (I.M.U). FONDECYT 1190957 (ANID) (K.G). (HHMI) NIAID R01-AI-043247 (M.K.W).

Molecular mechanisms of Apoptosis by HIV-1 coreceptors in Macrophages infected by CXCR4.

Ana Borrajo López¹

(1) Complutense University of MADRID, Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Pharmacy, Plaza RAMÓN Y CAJAL s/n, Madrid, Madrid

Introduction Apoptosis induction is associated with (Human immunodeficiency virus type 1) HIV-1 binding with α chemokine receptor 4 (CXCR4 (X4)) or β -chemokine receptor 5 (CCR5 (R5)) (essential step during HIV-1 replicative life cycle) in different target cells. For this purpose, apoptotic induction was evaluated in monocyte-derived macrophages (MDM) infected by X4 and R5 viruses. Materials To evaluate p38 mitogen-activated protein kinases (p38 MAPK) activation cells were lysed and subjected to immunoblot analysis. For the quantification, the bands on the films were scanned and processed through the Scion Image analysis program. To assess apoptosis and survival gene modulation in CXCR4 and the CCR5 infected MDM, RNA isolation, microarray analysis and flow cytometry measurement (FCM) of apoptotic cells were made. The isolation of polyA mRNA from each total RNA preparation was obtained by OLIGOTEX mRNA Purification System (Qiagen). The CyDye labelled cDNA was purified by QIAquick PCR purification Kit (Qiagen). Fluorescent-array images were collected for both Cy3 and Cy5 (dual colour) by using a ScanArray Express, Microarray Analysis System Version 2.0 (Perkin-Elmer) and image intensity data were extracted and analysed by using QuantArray Packard Biochips Software. The human Cancer Chip version 4.0 (Takara) slides were used for microarray analysis. At established time points of infection supernatants were prepared for apoptosis analysis by FCM. The Propidium Iodide (PI) fluorescence was measured by Flow Cytometry in FL2-H (FACScan™, Becton Dickinson System, San José, CA) and registered on a logarithmic scale. All the results was performed in duplicate. Results CCR5-dependent 81A viral load determined a drastic increase from Day 7 up to Day 10. Thus, we investigated if this phenomenon is somewhat linked to the loss of MDM during CXCR4-dependent infection. Apoptosis induced by X4-viruses starts from day 6, peaks 40–50% at day 10, whereas is 1.65% in R5-infected MDM. In line with this, Western blotting analysis was conducted and the p38 activation at 30' after infection in MDM infected X4-virus, but not with R5 strains was shown. Moreover, the CXCR4 antagonist AMD3100 inhibited apoptosis and proapoptotic MAPK/p38 activation. Microarray analysis showed modulation of proapoptotic and cancer-related genes induced by X4 strains starting at 24 hours after infection, whereas R5 viruses modulated the expression of genes not correlated with apoptotic-pathways.

Conclusions Overall, these results shed light on the biological mechanism leading to MDM survival during HIV-infection. Abortive infection with X4 strains, and their consequent depletion from reservoirs, may explain a major pathogenic role of R5 viruses in all (but terminal) phases of the HIV-1 disease and provide important implications for the therapy of HIV infection.

Enviado por: Maria del Mar Enciso Molano

Evaluación de la capacidad fagocítica de células J774A.1 sobre *Candida palmioleophila*

Maria del Mar Enciso Molano¹, Wilfredo Valdivieso Quintero¹, Patricia Escobar Rivero², Deicy Villalba Rey¹, Indira Hernández Peñaranda¹

(1) Universidad de Santander, Ciencias Naturales, Bucaramanga, Colombia

(2) Universidad Industrial de Santander, Facultad de Salud, Bucaramanga, Colombia

Introducción: *Candida palmioleophila* (*C. palmioleophila*) es una levadura con actividad lipolítica y capacidad para asimilar el aceite crudo de palma. Sin embargo, también es considerada como un patógeno emergente involucrado en diferentes tipos de micosis. Su asociación con condiciones clínicas es limitada, debido, en parte, a su identificación errónea con *Candida famata* y *Candida guilliermondii*; hecho que también ha enmascarado el conocimiento de sus mecanismos de patogenicidad y de su relación con los macrófagos durante el proceso de fagocitosis en el hospedero. En el presente trabajo se determinó la capacidad de los macrófagos para fagocitar dos cepas de *C. palmioleophila* en un modelo in vitro, los resultados obtenidos fueron comparados con *C. albicans*. **Metodología:** Células J774A.1 fueron co-cultivadas con *C. palmioleophila* (Nakase & Itoh-8040), *C. palmioleophila* (NCYC - 3373) y *C. albicans* (ATCC® 10231 en un radio macrófago: levadura de 1: 1, 1: 3 y 1: 5 por 0,5, 1 y 3 horas a 37°C, 5% de CO₂. Las células fueron fijadas con metanol y coloreadas con Giemsa. Se realizó conteo microscópico en 300 células diferenciando entre macrófagos con levaduras y sin levaduras, el porcentaje de fagocitosis fue calculado con la siguiente fórmula: (número total de macrófagos con levaduras/número total de macrófagos x 100). **Análisis estadístico:** Se realizó un diseño factorial 3x3 para cada levadura. Diferencias significativas entre los grupos evaluados fueron determinadas por análisis de varianza de dos vías y análisis pos Hoc con el método de mínima diferencia significativa de Fisher con el software R versión 4.0.3. **Resultados:** Los macrófagos fagocitaron las tres *Candidas* evaluadas observándose blastoconidias intracelulares; adicionalmente se visualizaron estructuras asociadas a pseudohifas en el caso de *C. albicans*. Los porcentajes de fagocitosis para todas las levaduras fueron superiores al 46 % en cualquiera de los tiempos y radios estudiados. Diferencias significativas fueron observadas entre los radios de infección y de los tiempos de incubación evaluados. Según la cepa evaluada los porcentajes más altos encontrados fueron: i. Para *C. palmioleophila* (Nakase & Itoh-8040) del 82 %, 79 % y 90 % a un radio 1:5 luego de 0,5, 1 y 3 horas ii) para *C. palmioleophila* (NCYC - 3373), del 77 % y 82 % a un radio 1:5 después de 1 y 3 horas, y iii. Para *C. albicans* del 90 % y 100 % a un radio 1:5 después de 1 y 3 horas. Para todos los casos los porcentajes de fagocitosis más bajos ocurrieron en la relación 1:1 sin observar diferencias significativas según el tiempo. **Conclusión:** La capacidad fagocítica de los macrófagos J774-A1 sobre la *C. palmioleophila* fue demostrada. Los porcentajes de fagocitosis más altos se obtuvieron con el radio macrófago:levadura 1:5 y tiempos de incubación de 1 y 3 horas.

Financing: Financiación: Contrato 592-2018, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Minciencias, UDES, Universidad de Santander, Caracterización de lipasas del patógeno oportunista *Candida palmioleophila* y su influencia en la infectividad de macrófagos in vitro.

Variability of the LngA Protein and its Effect on Adhesion to HT-29 Intestinal Cells

Juan Xicohtencatl-Cortes¹, Karina Espinosa-Mazariego¹, Zeus Saldaña-Ahuactzi¹, Sara A. Ochoa¹, Ariadna Cruz-Córdova¹

(1) Hospital Infantil de México Federico Gómez, Unidad de Enfermedades Infecciosas, Laboratorio de Investigación en Bacteriología Intestinal, Doctor Márquez 162, Doctores, Cuauhtémoc,, Ciudad de México, Mexico

Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) assembles the CS21 pilus, which is mainly composed of LngA protein and is involved in adherence to intestinal cells. Variations in amino acid residues in the LngA protein possibly modify the colonization of CS21-producing ETEC by their host. The main purpose of this study was to determine whether amino acid changes in the LngA proteins of clinical ETEC strains modified adherence to HT-29 cells. **Methods.** In silico analysis of the 12 LngA genes in ETEC clinical strains was performed. A kanamycin cassette replaced the LngA gene in the Lng operon of the E9034A strain, which was isolated and used for transformation into *E. coli* BL21 (ECBLpEΔA). This strain was transformed with the pJET1.2 vector carrying LngA genes with allelic variants (ECBLpEΔApJV), which were previously sequenced. The point substitutions were inserted into the vector pJETLngAFMU073332 (ECBLpEΔAV2), verified by DNA sequencing, and transformed into the ECBLpEΔA strain. LngA protein expression in the ECBLpEΔAV2 strains with point substitutions (ECBLpEΔApJV2PS) was determined by Western blotting (WT) and RT-PCR. Bacterial aggregates were directly visualized as bacterial clumps in the tissue culture plates. Bacterial adherence to HT-29 cells was determined by quantitative (viable count) and qualitative analyses (light and immunofluorescence microscopy). **Results.** Bioinformatics alignment analysis of the LngA proteins from 12 clinical ETEC strains showed a hypervariable region with two mainly different variants among amino acid positions 78 to 109 and 178 to 238. Phylogenetic analysis clustered the ETEC clinical strains into three groups: V1 (63283, FMU073332, 63280, 49247, 45162, and 45163), V2 (44166), and V3 (48342, 62123, E9034A, 63880, and 64760). The LngA protein (immunodetection), CS21 pilus (immunofluorescence and ELISA), and developed bacterial aggregates were detected in ECBLpEΔApJV and ECBLpEΔApJV2PS strains. Variations in amino acid residues affect the adherence percentages to HT-29 cells. A 3D models of the LngA protein with point substitutions showed modifications in spatial organization of the exposed variable regions 189–236. **Conclusion.** The variability of the residues of amino acids in the LngA protein in ETEC clinical strains possibly leading in the colonization of ETEC to its host.

Financing: This study was supported by grants CONACYT 133451 and Public Federal Funds HIM/2014/016 SSA.1110, HIM/2015/034 SSA.1163, HIM/2016/028 SSA.1240, HIM/2017/004 SSA.1300 from the Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Caracterización del metabolismo de macrófagos humanos infectados con *Mycobacterium bovis* BCG

Tania García¹, Fernando Herrera³, Vivian Irving¹, Mariana Margenat¹, Ana Ferreira¹, Andrés López-Radcenco², Guillermo Moyna², Andrea Villarino¹

(1) Universidad de la República, Sección Bioquímica / Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay

(2) Universidad de la República, Departamento de Química del Litoral, Centro Universitario Regional Norte, Ruta 3 Km 363, Paysandú, Uruguay

(3) Universidad Nacional del Litoral, Departamento de Física, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Bv. Pellegrini 2570, Santa Fe, Argentina

La tuberculosis es una enfermedad respiratoria zoonótica causada por micobacterias del complejo Tuberculosis. Dentro de este grupo se incluyen bacterias de crecimiento in vitro lento como *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium bovis*. *M. tuberculosis* es el agente etiológico de la TB humana, enfermedad que constituye la décima causa de muerte en el mundo y hasta la llegada de la COVID-19 la primera debida a enfermedades infecciosas. *Mb* es el agente etiológico de la tuberculosis bovina, enfermedad que causa pérdidas económicas importantes en el sector agroindustrial. Durante la infección, ambas micobacterias introducen factores de virulencia en los macrófagos, como la fosfatasa PtpA, promoviendo la persistencia de las bacterias dentro de las células infectadas. PtpA interactúa con componentes eucariotas, inhibiendo la acidificación del fagolisosoma, la apoptosis y la respuesta inmune innata modulando a TNF, IL-1 β e IL-12. Además, nuestro grupo reportó evidencias que sugieren que PtpA interactúa con distintas proteínas del metabolismo energético como la subunidad alfa de la proteína trifuncional (hTFP-ECHA), clave en la beta-oxidación de los ácidos grasos; y la fosfofructoquinasa-1 (hPFK-1), principal enzima reguladora de la glucólisis. Los cambios metabólicos durante la infección, descritos en la literatura, son variados, observándose en algunos casos disminución tanto de la glucólisis como del metabolismo mitocondrial y en otros una disminución del metabolismo mitocondrial y un aumento de la glucólisis aerobia (efecto Warburg). En estos ensayos para evitar la formación de aglomerados se utilizan cepas tratadas con un detergente el cual remueve la cápsula de las micobacterias. Sin embargo en la infecciones naturales dicha cápsula está presente, por lo cual el objetivo del presente estudio es evaluar por RMN potenciales cambios en el perfil metabólico de macrófagos humanos infectados con la cepa vacunal *Mb* BCG conteniendo o no la cápsula. En este sentido, hemos caracterizado la cepa *Mb* BCG a utilizar por microscopía y por PCR usando marcadores moleculares, verificado la presencia y secuencia del gen de PtpA. Se definió el protocolo de extracción de los metabolitos de los macrófagos, variando el número de células de partida (1x10⁶-3x10⁶ células), evaluando en las diferentes réplicas la variación en la concentración de aquellos metabolitos descritos como modulados durante la infección, como acetato, alanina, colina, citrato, fosfoetanolamina, glucosa y lactato. En este momento nos encontramos obteniendo las muestras de los macrófagos infectados con la cepa *Mb* BCG a una MOI (10:1). Por otro lado, se avanzó en generar el mutante *Mb* BCG Δ PtpA, estandarizándose el protocolo de electroporación de la cepa *Mb* BCG, con el objetivo de mutar el gen de PtpA, basándose en el sistema Gateway. Recientemente, se obtuvieron dos transformantes que están siendo expandidos y esperamos contengan el plásmido con la secuencia de las recombinasas micobacterianas. Estas son necesarias para insertar en una segunda electroporación un segmento de ADN que codifica para un gen de resistencia antibiótica, el cual interrumpirá el gen de PtpA. Contar con esta cepa será una herramienta importante para evaluar el potencial rol de PtpA en la modulación del metabolismo del macrófago durante la infección.

Financing: ANII, PEDECIBA, CAP

Host-microbiota interactions in healthy and infected zebrafish larvae as revealed by global proteomic profiling

Antonia Ramos¹, Francisco Díaz-Pascual¹, Miguel Allende², Francisco P. Chávez¹

(1) Universidad de Chile, Laboratorio de microbiología de sistemas, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago CP 7800003, Chile, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Centro FONDAP de regulación del Genoma, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago CP 7800003, Chile, Santiago, Chile

The animal microbiome greatly affects physiology and health of its host; however, its contribution to the response towards bacterial pathogens in fish, remains poorly understood. We have previously performed dual proteomic profiling of zebrafish larvae when infected with *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 either by injection or immersion. Here, we have further investigated the contribution of the fish microbiome on this infectious process by using this proteomic approach. Most fish microbiome studies have provided valuable insights into the structure and diversity of the gut microbial community but not regarding their functional composition. Metagenomic studies can solve several of these limitations, however they can only uncover DNA sequences that were present but do not provide any clues regarding their actual expression levels. Consequently, the precise functions of the fish gut microbiome are still largely unknown, thereby complementary approaches are needed to elucidate its functional capacity. Here, by using a metaproteomic approach, we have determined the taxonomic and functional changes of the zebrafish larvae microbiota when infected by *P. aeruginosa*. First, zebrafish larvae were infected with *P. aeruginosa* either by injection or immersion as we have previously described. Global proteomic profiles of infected and control larvae were performed on a Thermo Q-Exactive HF-X Orbitrap mass spectrometer. Lastly, all peptides together with their predicted function and taxa were identified by using the open-source software Unipept. We have found that structural and functional dynamics of microbiomes of zebrafish larvae can be revealed by using global proteomic profiling. We found that bacterial taxonomic diversity was greatly reduced in larval microbiomes infected by injection when compared to those infected by immersion. Accordingly, we have also revealed profound changes in microbiome biological processes during infection by injection in contrast with unaltered ontology changes observed by infected larvae by immersion. These contrasting microbiome profiles of infected larvae with different protocols are in agreement with our previous dual proteomic profiles that suggested that during infection by immersion, healthy larvae suffered from a lack of oxygen when exposed to *P. aeruginosa*. Thus, we propose that metaproteomics analysis using global proteomic profiling of zebrafish larvae is a powerful tool for in vivo host-pathogen-microbiome interaction studies in fish. To our knowledge, this is the first structural and functional analysis of zebrafish larvae using metaproteomics.

Financing: Fondecyt 1211852

Identificación de polimorfismos en la adhesina FimH de *Escherichia coli* uropatogénica y su efecto en la colonización a células de vejiga HTB-5.

Marco A Flores-Oropeza^{1,2}, Juan Xicohtencatl-Cortes², Sara A Ochoa², Ariadna Cruz-Córdova², Laura M Contreras-Alvarado²

(1) Universidad Nacional Autónoma de México, Doctorado en Ciencias Biomédicas

(2) Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Laboratorio de Investigación en Bacteriología Intestinal

Introducción: La adherencia es la unión de un microorganismo a una superficie biótica o abiótica, esta interacción está mediada por estructuras proteicas denominadas fimbrias que contienen una o más subunidades especializadas llamadas adhesinas. En enterobacterias como es *Escherichia coli* se expresa la fimbria de tipo 1 un apéndice largo y delgado que contiene en su extremo apical a la adhesina FimH. Las cepas comensales están restringidas a la interacción con residuos tri-manosilados como son los presentes en la células del intestino, pero en *E. coli* uropatógena (UPEC), la unión a residuos mono-manosilados, abundantes en la vejiga, está incrementada generando un tropismo especializado. Esto tiene su origen en los alelos de *fimH* definidos por mutaciones de un solo nucleótido, que provocan cambios estructurales y que impactan aún más si caen dentro del dominio de unión a manosa. **Justificación:** La identificación de los alelos naturales en cepas clínicas mexicanas no se ha reportado hasta el momento, la prevalencia de un alelo y su identificación podría auxiliar en la optimización de una vacuna basada en FimH, contra UPEC. **Objetivos:** Evaluar la presencia de los alelos de *fimH* en una colección de cepas de UPEC aisladas de pacientes pediátricos del Hospital Infantil de México Federico Gómez, secuenciar, clonar y complementar en una cepa mutante de *fimH*. Analizar las secuencias clonadas y correlacionar con los perfiles de adherencia e invasión. **Materiales y métodos:** En nuestro estudio evaluaremos el perfil de adherencia de una colección de 100 cepas clínicas de UPEC (2017-2018) de interés clínico, las clasificaremos por su perfil de adherencia utilizando los controles de baja adherencia (*E. coli* 25922), moderada adherencia (*E. coli* J96) y de alta adherencia (*E. coli* CFT073). En el primer corte se seleccionarán 50 cepas al azar con diferentes patrones de adherencia, el DNA genómico se purificará y se utilizará una DNA polimerasa de alta afinidad (Phusion II) para amplificar el gen de *fimH*, utilizando oligonucleótidos específicos que flanqueen a 150 pb del inicio y final del gen. El producto de PCR se clonará en el plásmido pJET 2.1 y se secuenciará en una plataforma ILLUMINA. Utilizando software libre disponible se analizarán las secuencias, encontrando las modificaciones de un solo nucleótido, la presencia de alelos y su impacto en la estructura terciaria de la proteína. Para su expresión se usará a pUC19 complementado en la cepa CFT073Δ*fimH*::Km y se reevaluarán en ensayos de adherencia e invasión a la línea celular de vejiga humana HTB-9. **Resultados:** Los ensayos de adherencia muestra un perfil heterogéneo, el DNA genómico de las cepas seleccionadas *fimH*⁺ con perfiles de adherencia bajos, moderados y altos, se utilizó para la amplificación del gen, solo el 20% de las cepas son positivas a la amplificación completa, hasta el momento se han clonado con éxito 12 cepas en el plásmido pJET, estas han sido subclonadas y complementadas en la cepa CFT073Δ*fimH*. **Conclusión:** Las cepas son heterogéneas, el vector pJET a mostrado ser ideal para la clonación y la subclonación, el diseño de los iniciadores requiere una reevaluación.

Financing: Xicohtencatl-Cortes J HIM-2017-137-SSA.1432Ochoa SA HIM-2018-045-SSA.1507Xicohtencatl-Cortes J HIM-2019-038-SSA.1592

Comparación de las poblaciones de linfocitos T y macrófagos en la capa adventicia de quistes de Equinocosis Quística en bovinos y ovinos

María Baquedano¹, Caroll Stoore¹, Christian Hidalgo², Ismael Pereira¹, Rodolfo Paredes¹

(1) Universidad Andres Bello, Laboratorio de Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Ciencias de la Vida, Republica 440, Santiago, Chile

(2) Universidad de O'Higgins, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales (ICA3), San Fernando, Chile

La Equinocosis quística es una enfermedad de distribución mundial causada por el estadio larval del parásito *Echinococcus granulosus*, afectando tanto a humanos como animales de abasto, generando un gasto económico en salud pública y pérdidas productivas a nivel de decomiso de órganos. El metacestodo conocido quiste de Equinocosis quística está formado por tres capas: capa germinal, capa laminar y capa adventicia. Según su capacidad de producir protoescolices desde la capa germinal puede ser clasificado como fértil en el caso de que presente protoescolices capaces de continuar el ciclo de vida del parásito; o no fértil en el cual no hay producción de protoescolices y por ende no hay continuidad del ciclo de vida. La composición de la capa adventicia varía dependiendo del tipo de quiste y del hospedero en el que se forme el quiste y corresponde a la respuesta del hospedero a la formación del quiste, pudiendo estar conformada por linfocitos, macrófagos y reacciones fibróticas, entre otros. En Chile, los animales de abasto mayormente afectados son bovinos y ovinos, en los cuales se han visto diferencias en el componente fibrótico de la capa adventicia de los quistes extraídos, pero no se ha realizado la comparación de las células inmunes como linfocitos T y macrófagos presentes en estas capas adventicias. Se realizaron cortes histológicos seriados de 5 mm de quistes fértiles y no fértiles tanto de bovino como de ovino para realizar inmunohistoquímicas con anticuerpos contra CD3, con el fin de marcar la población de linfocitos T, y contra calprotectina, con el fin de marcar la población de macrófagos. Los anticuerpos secundarios utilizados son conjugados con HRP y se revelaron las inmunohistoquímicas con diaminobenzidina y la contratinción se realizó con hematoxilina. Utilizando el programa ImageJ se cuantificó la marca tanto de linfocitos T como de macrófagos y además se determinó la celularidad de las capas adventicias estudiadas. Las poblaciones de estos tipos celulares difieren entre los quistes extraídos de bovinos y ovinos y su locación es distinta entre las especies. En el caso de los macrófagos, estos se encuentran en proximidad de la capa laminar en los quistes de bovinos, mientras que en los quistes de ovinos estos se encuentran en proximidad de la reacción fibrótica.

Financing: ANID-Fondecyt #1190817

Gene expression in protoscoleces from liver and lung cysts of *Echinococcus granulosus sensu stricto*

Ismael Pereira², Christian Hidalgo³, Carroll Stoores¹, María Soledad Baquedano¹, Carolina Cabezas¹, Macarena Bastías⁴, Aníbal Riveros⁴, Claudio Meneses⁴, Martín Cancela⁶, Henrique Bunselmeyer Ferreira⁶, Sáenz Leonardo⁵, Rodolfo Paredes¹

(1) Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Republica 440, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, Programa de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias, Campus Sur, Santa Rosa 11315, La Pintana, Santiago, Chile

(3) Universidad de O'Higgins, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales, San Fernando, Chile

(4) Universidad Andrés Bello, Centro de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(5) Universidad de Chile, Laboratorio de Vacunas, Campus Sur, Santiago, Chile

(6) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional, Centro de Biotecnologia, Porto Alegre, Chile

Background: Cystic Echinococcosis is a zoonotic parasite disease caused by the cestode *Echinococcus granulosus sensu lato*. It has worldwide distribution and inflicts severe damage in cattle, sheep and human hosts. The protoscoleces is a parasite form that can be studied with minimal contamination with host molecules and is present only in fertile metacestodes. Despite there are differences in morphology between sheep lung and liver protoscoleces' metacestodes the effect of the microenvironment provided by invaded host viscera in protoscoleces transcriptomics has not been studied. **Methods:** RNA-Seq differential expression analysis was performed on sheep *Echinococcus granulosus sensu stricto* protoscoleces obtained from sheep liver and lung CE cysts. Samples were obtained from the same sheep as well as from different sheep. A gene was considered differentially expressed with false discovery rates <0.05 and a $\log_2\text{FoldChange} > 1.5$. **Results:** We obtained transcriptomic data of protoscoleces from 6 lung CE cysts and 6 liver CE cysts. All samples were previously genotyped as *Echinococcus granulosus sensu stricto*. Differential gene expression analysis reveals discrete differences between protoscoleces obtained from liver or lung cysts, either within the same sheep or different sheep hosts. **Conclusions:** We found that the viscera is not a main factor involved in the potential differential gene expression in the same or different sheep parasitized by *E. granulosus s.s.*

Financing: ANID-Fondecyt #1190817

Transcriptomic analysis of *Salmonella Typhimurium* ST313 (iNTS): How different are they in vivo versus in vitro?

Isabela Martins¹, Tamara Ribeiro¹, Patrick Silva¹, Luana Leite¹, Bruna Lustri¹, Rodrigo Hernandez², Cristiano Moreira¹

(1) São Paulo State University, Biological Sciences Department, São Paulo State University, Rodovia Araraquara-Jaú Km 1, Araraquara- SP, Brazil

(2) São Paulo State University, Dept Microbiol & Imunol, São Paulo State University, R. Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, 250 - Distrito de Rubião Junior, Botucatu- SP, Brazil

Salmonella enterica serovar Typhimurium sequence type (ST)313 has been constantly isolated as invasive nontyphoidal (iNTS) infections mainly in the sub-Saharan Africa associated with multidrug-resistant (MDR) and high mortality. ST313 strains are able to evade the gastrointestinal tract and reach the bloodstream of patients with comorbidities via unknown mechanisms. However, in Brazil this sequence type was recently described and there are a few studies that tried to elucidate the virulence of strains. The aims of this study were to evaluate the antimicrobial resistance profile of ST313 strains isolated from bloodstream and transcriptome via RNASeq under growth in Luria Bertani at 37°C of ST313, invasion and survival in HeLa cells compared to bacterium restricted to gastroenteritis SL1344 prototype. In addition, the study also employed innovative and alternative model to study infection in vivo, *Galleria mellonella* larvae to better evaluate the pathogenic bacterial processes. The resistance profiles against 11 antimicrobials were assessed of all 13 Brazilian ST313 strains. All the strains were resistant to at least two antimicrobials tested ampicillin and streptomycin or kanamycin and just one strain was resistant to all (ampicillin, streptomycin and kanamycin). The transcriptome showed upregulated genes of virulence such as SPI-1 and SPI-2 and environmental oxidative stress genes. All ST313 strains here tested were able to invade HeLa cells but only one of the strains showed an invasion phenotype similar than SL1344. On the other hand, the survival levels and mortality of *Galleria mellonella* larvae were similar during 3 days period. Distinct initial inoculums per larva were tested for the ST313 strains and compared to SL1344. Different levels of survival were observed under differentiated initial inoculums when compared larva with ST313 and SL1344 larvae, and 100% of survival with 104 CFU/ larva both bacteria. In conclusion, low antimicrobial resistance profile was observed and the transcriptomic preliminary data help us to elucidate how these strains are a concern and break the gut barrier. Additionally, ST313 strains here studied have showed lower HeLa cells invasion levels in vitro, conversely the higher virulence levels in the *G. mellonella* model was similar to the SL1344 pathogenic prototype strain, suggesting that *G. mellonella* model is a very useful tool to evaluate in vivo infections.

Financing: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes)- Brazil Finance Code 001 - and FAPESP (2019/03049-7).

Contribución de los efectores GtgE y SopD2 a la supervivencia intracelular de *Salmonella Typhimurium* en la ameba *Dictyostelium discoideum*

Fernando Amaya Inzunza¹, Andrea Sabag Matilla¹, Sergio A. Álvarez Armijo¹, Carlos A. Santiviago Cid¹

(1) Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Independencia, Santiago, Chile

Tras invadir una célula hospedera, *Salmonella* sobrevive y se replica intracelularmente en un compartimiento membranoso especializado llamado "vacuola contenedora de *Salmonella*" (SCV). Para la formación y mantención de la SCV, la bacteria transloca una serie de proteínas denominadas "efectores" hacia la célula hospedera a través de dos sistemas de secreción tipo III (T3SSs) codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 (T3SS-1) y SPI-2 (T3SS-2). Muchos efectores son capaces de modular o interferir con la función de proteínas GTPasas pequeñas de la familia Rab, como Rab32. Entre otras funciones, Rab32 es parte de un vía de defensa del hospedero que restringe el crecimiento de bacterias patógenas intracelulares, tales como *Listeria*, *Mycobacterium* y *Salmonella*. Los efectores GtgE y SopD2 de *Salmonella Typhimurium* actúan cooperativamente para proteolizar a Rab32 y prevenir su reclutamiento hacia la SCV, favoreciendo la supervivencia intracelular de esta bacteria en macrófagos. Durante su ciclo de vida, *Salmonella* interactúa con amebas y otros protozoos depredadores en el ambiente. La capacidad de *Salmonella* para sobrevivir y replicarse dentro de amebas, incluyendo la ameba modelo *Dictyostelium discoideum*, ya se ha reportado. Sin embargo, los factores de virulencia y los mecanismos moleculares involucrados en la interacción de *Salmonella* con estos organismos no han sido completamente caracterizados. Previamente, nuestro grupo reportó que *S. Typhimurium* requiere de T3SS-1 y T3SS-2 para sobrevivir intracelularmente en *D. discoideum* residiendo en un compartimiento tipo SCV, tal como se ha descrito en macrófagos de hospederos animales. En este trabajo estudiamos la participación de los efectores GtgE y SopD2 durante el proceso infeccioso de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*. Para esto, generamos cepas mutantes Δ gtgE, Δ sopD2 y Δ gtgE Δ sopD2 de *S. Typhimurium* y evaluamos su supervivencia intracelular en *D. discoideum* mediante ensayos de infección en competencia. En los diferentes tiempos de infección evaluados, todas las mutantes mostraron un incremento en su internalización y una disminución en su supervivencia intracelular respecto a cepa silvestre. Paralelamente, mediante análisis bioinformáticos determinamos que el genoma de *D. discoideum* posee 4 loci que codifican proteínas homologas a Rab32 de mamífero. Nuestros análisis revelaron que todas las proteínas Rab32 de *D. discoideum* comparten un alto porcentaje de identidad a nivel de secuencia aminoacídica con las proteínas Rab32 de humano, ratón y mono verde africano. Además, todas presentan el motivo de secuencia definido experimentalmente como el sitio de corte para la proteasa GtgE. En conjunto, nuestros resultados indican que los efectores GtgE y SopD2 contribuyen a la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en *D. discoideum* y que todas las proteínas Rab32 codificadas en el genoma de la ameba serían blancos potenciales de los efectores GtgE y SopD2.

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844 y 1212075, y la beca CONICYT/ANID 21191925.

Adventitial layer fibrosis and cellularity of cystic echinococcosis cysts from sheep and cattle

Caroll Stoore¹, María Soledad Baquedano¹, Christian Hidalgo², Ismael Pereira¹, Rodolfo Paredes¹

(1) Universidad Andres Bello, Medicina Veterinaria, Ciencias de la Vida, Santiago, Chile

(2) Universidad de O'Higgins, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales (ICA3), San Fernando, Chile

Cystic echinococcosis (CE) is a zoonotic disease with worldwide distribution caused by the plathelminth *Echinococcus granulosus sensu lato*. It has an indirect life cycle, with dogs as definitive hosts and herbivores as intermediate hosts. Humans are considered dead-end hosts. The metacestode is characterized by fluid-filled vesicles that grow in liver and lungs of intermediate and dead-end hosts. These cysts are comprised of three layers: germinal and laminated layers, of parasite origin, and the adventitial layer, which consists of the host immune response. CE cysts can also be classified according to their ability to continue the life cycle: fertile CE cysts contain protoscoleces, the infective stage to the definitive hosts, whereas non-fertile CE cysts do not. In ruminants, such as cattle and sheep, there are striking differences in CE cyst fertility, with sheep usually harboring fertile CE cysts while cattle usually harbor non-fertile CE cysts. The goal of this study was to analyze the cellularity and fibrotic response in adventitial layer of fertile and non-fertile *Echinococcus granulosus sensu stricto* cysts from cattle and sheep. Tissue samples of 1x1 cm containing germinal, laminated and adventitial layer were obtained from infected liver and lungs, embedded in paraffin and cut into 5 mm thick sections. Only samples from *E. granulosus s.s.* were used confirmed by *cox1* mitochondrial gene sequencing. Slides were stained with both haematoxylin-eosin and Van Gieson staining and were photographed for fibrosis and cellularity measurements. Our results show that the fibrotic response is thicker in sheep and fertile samples, when compared to cattle and non-fertile samples, respectively. As for cellularity, the opposite was found, with higher cellularity in cattle and non-fertile samples, when compared to sheep and fertile samples, respectively. These results highlight the differential immune response that cattle and sheep can trigger towards *E. granulosus s.s.* metacestodes, and how it can be directly associated with fertility status and continuity of the parasite life cycle.

Financing: FONDECYT 1190817

Estudio comparativo de la adaptación al ambiente intestinal entre dos serovares de *Salmonella enterica* con diferente invasividad en humanos

Adriana Martínez¹, Bruno D' Alessandro¹, Germán Traglia¹, Julieta Bisio¹, José Alejandro Chabalgoity¹, Laura Betancor², Lucia Yim¹

(1) UdelaR, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, AV. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

(2) UdelaR, Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Av. Alfredo Navarro 3051, Montevideo, Uruguay

La salmonelosis es una de las principales enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial. Se presenta comúnmente con gastroenteritis autolimitada, aunque con menos frecuencia puede causar bacteriemia y focos extraintestinales de infección. En este trabajo estudiamos dos serovares de *Salmonella enterica* estrechamente relacionados filogenéticamente, con comportamientos patogénicos diferentes en el humano. *S. Dublin* (en adelante SDU) está adaptado al ganado vacuno, pero en las raras ocasiones en que infecta al humano causa enfermedad invasiva. Por otro lado, *S. Enteritidis* (en adelante SEN) tiene amplio rango de hospedadores y cursa generalmente con gastroenteritis autolimitada. Los determinantes bacterianos que llevan a la restricción a hospedero y por tanto a enfermedad invasiva son un área de intenso estudio. Se ha descrito la delección o inactivación de genes implicados en el metabolismo anaerobio central (importantes para proliferar en el lumen intestinal) en serovares invasivos de *Salmonella*. El objetivo de este trabajo es estudiar comparativamente la capacidad de adaptación de ambos serovares al ambiente intestinal, lo cual podría estar asociado a una menor invasividad. En un trabajo previo de proteómica comparativa entre ambos serovares, crecidos en condiciones que simulan el ambiente intestinal de mamíferos, identificamos proteínas implicadas en la utilización de compuestos presentes en el intestino (etanolamina y 1,2-propanodiol), ausentes en los proteomas de SDU, pero presentes en los de SEN. Sin embargo, los genes que las codifican están intactos en el genoma de SDU. Estos compuestos no fermentables favorecen el crecimiento de *Salmonella* frente a la microbiota en el ambiente anaerobio intestinal, en condiciones de inflamación, dado que pueden ser usados como fuentes de carbono para realizar respiración anaeróbica usando aceptores de electrones alternativos al O₂ como el tetratoato, que se genera como consecuencia de la inflamación. Los niveles de ARNm de algunos de estos genes seleccionados, expresados en condiciones que imitan las intestinales, resultaron mayores en SEN con respecto a SDU, apoyando los resultados proteómicos. Un estudio preliminar entre 5 aislamientos de cada serovar, indicó que SEN crece mejor en medio de cultivo con etanolamina o 1,2-propanodiol como única fuente de carbono con respecto al SDU. Además, estudiamos la capacidad de invadir células intestinales humanas de 4 aislamientos de cada serovar y los resultados mostraron que SEN invade significativamente menos que SDU. También realizamos experimentos en el modelo murino de colitis causada por *Salmonella*, coinfectando oralmente ratones con una cepa de cada serovar en una relación 1:1. Los resultados mostraron que 2 y 4 días post-infección los recuentos en ciego son significativamente mayores para SEN con respecto a SDU. Sin embargo, cuando analizamos la carga bacteriana en órganos internos esto se invierte. Nuestros resultados refuerzan la noción de que los serovares invasivos son defectuosos para el crecimiento en el intestino en comparación con los serovares gastrointestinales, y pueden apuntar a un mecanismo de silenciamiento de genes que no son necesarios para colonizar el entorno sistémico, como un paso previo a su inactivación. Esto puede representar una etapa intermedia en el proceso de evolución hacia la adaptación a un estilo de vida extra-intestinal.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD COMBINATORIA DE 2 ADYUVANTES JUNTO CON GLICOLÍPIDOS INCORPORADOS EN LA POTENCIACIÓN DE LA VACUNA BCG EN EL MODELO C57BL/6

Andres Baena¹, Jovany Hernandez¹, Mauricio Rojas¹
(1) Universidad de Antioquia, Medicina, Medellín, Colombia

Introducción: La tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas más letales, la cual generó más de 10 millones de casos nuevos y eliminó a más de 1,4 millones de personas en el 2019. La vacuna de BCG es la única aprobada para prevenir las tuberculosis diseminadas en niños y es usada en más de 100 millones de neonatos cada año. La capacidad de esta vacuna para prevenir la tuberculosis pulmonar en adultos ha sido muy variable, sin embargo, varias vacunas recombinantes basadas en BCG se encuentran actualmente en ensayos clínicos con resultados muy prometedores. **Métodos:** Para los ensayos in vitro se utilizaron células dendríticas (BMDCs) a partir de médula ósea de ratones C57BL/6 diferenciadas con GM-CSF. También se usaron esplencitos y el hibridoma de iNKT (DN3A4 1.2). Se utilizaron ratones C57BL/6 hembras de 6-8 semanas para los experimentos in vivo. Para los análisis de citoquinas se usaron ELISAs y el CBA y por citometría de flujo. **Resultados:** En este trabajo mostramos resultados de una alternativa que mejora la potencia de la respuesta a la vacuna de BCG mediante la incorporación de glicolípidos activadores de iNKTs (BCG-glic) en la pared de la bacteria, y la combinación de dos adyuvantes. Se observó un incremento de la producción de citoquinas tipo Th1 como el IFN γ y el TNF α in vitro e in vivo. Mediante el uso de RNA-seq logramos evidenciar un transcriptoma particular en células dendríticas derivadas de médula ósea (BMDCs) y tratadas con la BCG más adyuvantes. En este transcriptoma se muestra una potenciación de las citoquinas Th1 como la IL-12, mediante la modulación positiva de varios genes asociados a esta vía inmunológica. Adicionalmente se observó la modulación positiva de genes asociados con la maduración y sobrevivencia de las células BMDC, lo que podría incrementar la capacidad de estas células para lograr una estimulación óptima del sistema adaptativo. Proponemos que esta estrategia de modificación de la vacunación con BCG-glic junto con los adyuvantes seleccionados, podría incrementar las células T CD8+ residentes de memoria en los pulmones de los ratones, lo cual permitiría generar una mayor protección frente a un reto con una bacteria virulenta de Mtb.

Financing: Universidad de Antioquia CODI 2015-6726

Bacterias con potencial regulador de *Aeromonas hydrophila* aislados de la piel de *Phyllomedusa distincta* (Anura: Phyllomedusidae)

Faride Lamadrid-Feris¹, **Zuleyma Johana Becerra Tellez**², Fernando Ribeiro Gomes¹

(1) Universidade de São Paulo, Departamento de Fisiologia, Instituto Biociências, Rua do Matão, trav. 14, nº 321, Cidade Universitária, São Paulo - SP, CEP: 05508-090, São Paulo, Brazil

(2) Universidade de São Paulo, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas II, Av. Prof. Lineu Prestes, 1374 - Butantã, São Paulo - SP, 05508-000, São Paulo, Brazil

Las comunidades bacterianas simbióticas son reconocidas por contribuir a la resistencia del huésped y favorecer su desempeño en el medio ambiente. En anuros, las comunidades simbióticas están relacionadas con la inhibición y regulación de patógenos, así como con la respuesta al estrés ambiental. Actualmente, los anuros enfrentan un gran declive en sus poblaciones a nivel mundial por pérdida de hábitat, introducción de especies invasoras, efectos del calentamiento global y enfermedades infecciosas emergentes causadas por bacterias, hongos y virus. Dentro de los principales patógenos emergentes ha sido descrito el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, que causa quitridiomycosis y el “síndrome de las piernas rojas” ocasionado bacterias gramnegativas y saprófitas como *Aeromonas hydrophila*, *Proteus* y *Citrobacter* spp. Como posible tratamiento para mitigar el impacto de estas enfermedades está la aplicación de bacterias inhibidoras en la piel de anfibios, conocida como bioaumentación, que puede desempeñar una función protectora contra enfermedades infecciosas emergentes en condiciones de campo y laboratorio. Especies endémicas enfrentan un mayor grado de amenaza, como es el caso de la rana arborícola *Phyllomedusa distincta*, endémica de la Mata Atlántica brasileña. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo caracterizar y evaluar el potencial inhibitorio de patógenos por parte de la comunidad bacteriana residente de *P. distincta*, en el parque estatal Intervalles, una reserva de Mata Atlántica, al sureste de Brasil. Para esto fueron tomadas muestras de piel de la región dorso-ventral de 20 individuos, entre los meses de noviembre y diciembre de 2017. Previamente a la colecta de la muestra los individuos fueron lavados con 300 mL de agua estéril durante 10 segundos con el propósito de eliminar la microbiota transeúnte y mantener la microbiota residente. Las muestras fueron tomadas con un cotonete y guantes estériles. Las muestras fueron tomadas en campo y posteriormente en condiciones de cautiverio en los días 7, 14 y 21. A partir de estas muestras fueron aislados 257 morfotipos. Posteriormente, a través de pruebas de antagonismo en placa se seleccionaron 38 morfotipos que mostraron actividad inhibitoria sobre el crecimiento del patógeno oportunista *Aeromonas hydrophila*. Estos fueron aislados fueron identificados a través de la amplificación parcial de la región 16S rRNA encontrándose nueve géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Delftia*, *Paenibacillus*, *Yokenella*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacteriaceae*, siendo *Pseudomonas* el género más abundante representando el 58%. Este género es ampliamente diverso y ha sido descrito como parte de la microbiota de anfibios, así como su papel ecológico como inhibidoras de patógenos oportunistas. Hasta el momento estos resultados sugieren, que bacterias presentes en la microbiota residente de *P. distincta* presentan actividad antagónica contra el patógeno *A. hydrophila*, sugiriendo que estas bacterias como candidatas con potencial utilidad para tratamiento en anuros mediante bioaumentación. En las próximas etapas será evaluada la actividad inhibitoria de estas bacterias frente a otras bacterias y hongos patógenos de anuros. Palabras clave: bacterias antagonistas, síndrome de las piernas rojas, Mata Atlántica, Anuros.

Financing: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, la Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior y el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Increased dietary availability of selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) improves its plasma antioxidant capacity and resistance to infection with *Piscirickettsia salmonis*

Javiera Pérez Valenzuela^{1,2}, Madelaine Mejias^{1,2}, Pablo Salgado^{1,2,3}, Daniela Ortiz^{1,2,3}, Liliana Montt^{1,2}, Ignacio Chávez-Baez^{1,2}, Francisca Vera-Tamargo^{1,2}, Dinka Mandakovic^{1,2,4}, Jurij Wacyk^{2,3}, Rodrigo Pulgar^{1,2}

(1) Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas (LG2IB), Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, El Líbano 5524, Santiago, Chile

(2) Center for Research and Innovation in Aquaculture (CRIA), Universidad de Chile, Santiago, Chile

(3) Laboratorio de Nutrición Animal (LABNA), Facultad de Ciencias Agronómicas, Producción Animal, Universidad de Chile, Santa Rosa 11315, Santiago, Chile

(4) GEMA Center for Genomics, Ecology and Environment, Universidad Mayor, Camino La Piramide, Santiago, Chile

Salmonid Rickettsial Septicaemia (SRS), caused by *Piscirickettsia salmonis*, is the most important infectious disease in the Chilean salmon farming industry. An opportunity to control this disease is to use functional micronutrients to modulate host mechanisms of response to the infection. Since *P. salmonis* may affect the host antioxidant system in salmonids, particularly that dependent on selenium (Se), we hypothesized that fish's dietary selenium supplementation could improve the response to the bacterial infection. To address this, we defined a non-antibiotic, non-cytotoxic concentration of selenium to evaluate its effect on the response to *in vitro* infections of SHK-1 cells with *P. salmonis*. The results indicated that selenium supplementation reduced the cytopathic effect, intracellular bacterial load, and cellular mortality of SHK-1 by increasing the abundance and activity of host glutathione peroxidase. We then prepared diets supplemented with selenium up to 1, 5, and 10 mg/kg to feed juvenile trout for 8 weeks. At the end of this feeding period, we obtained their blood plasma and evaluated its ability to protect SHK-1 cells from infection with *P. salmonis* in *ex vivo* assays. These results recapitulated the observed ability of selenium to protect against infection with *P. salmonis* by increasing the concentration of selenium and the antioxidant capacity in fish's plasma. To the best of our knowledge, this is the first report of the protective capacity of selenium against *P. salmonis* infection in salmonids, becoming a potential effective host-directed dietary therapy for SRS and other infectious diseases in animals at a non-antibiotic concentration.

Inhibition of the cholesterol synthesis pathway is associated with resistance of salmon macrophages to *Piscirickettsia salmonis* infection

Madelaine Mejías^{1,2}, Liliana Montt¹, Andrea Talamilla-Espinoza^{1,2}, Javiera Pérez-Valenzuela^{1,2}, Francisca Vera-Tamargo^{1,2}, Ignacio Chávez-Báez^{1,2}, Dinka Mandakovic^{1,2,3}, Rodrigo Pulgar^{1,2}

(1) Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas (LG2IB). Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile. El Líbano 5524, Macul, Santiago, Chile.

(2) Center for Research and Innovation in Aquaculture (CRIA), Universidad de Chile, Santiago, Chile.

(3) GEMA Center for Genomics, Ecology and Environment, Universidad Mayor, Camino La Pirámide 5750 Huechuraba, Santiago, Chile.

Chile is the second largest exporter of salmonids worldwide, but despite the success of the industry, it has been subject to millionaire losses in recent years mainly due to disease infections, leading the Salmonide Rickettsial Septicemia (SRS) caused by its the facultative bacterium *Piscirickettsia salmonis*. This pathology is responsible for the highest use of antibiotics in our country to treat fish infections. However, the antibiotic treatment, together with the vaccines used against this disease, have not been effective since this pathology continues to generate outbreaks. For this reason, the use of disruptors of the host biological processes and metabolic pathways, relevant to the pathogen, become advantageous strategies to combat SRS. It has been described that drugs that affect cholesterol metabolism strongly attenuate the cell entry and/or intracellular multiplication of pathogens. Thus, in this work we used atorvastatin to disrupt the biosynthesis of cholesterol in a salmon macrophage cell line (SHK-1). Our results showed that atorvastatin, in a non-cytotoxic and non-antibiotic concentration (1 μM), reduced the intracellular amount of cholesterol when the medium was not cholesterol supplemented. In the presence of atorvastatin 1 μM , *P. salmonis* reduced its ability to infect macrophages, reducing the cytopathic effect and the number of replicative vacuoles caused by the bacterial infection. This protection was diminished in the presence of mevalonate, which allowed to associate the infection inhibition specifically to the disruption of the cholesterol biosynthesis pathway by the atorvastatin supplementation. Taken together, these results highlight the relevance of the regulation of cholesterol synthesis in the host, making it an attractive process to be manipulated and thus combat SRS by non-antibiotic pharmacological and/or dietary strategies.

Financing: Proyecto ENLACE FONDECYT VID 2020, N° 989/2020. Institución: Universidad de Chile (VID)

Caracterización in vitro de factores asociados a virulencia en *Candida palmioleophila*

Maria Camila Barragán Bohórquez¹, Wilfredo Valdivieso Quintero¹, Indira Paola Hernández Peñaranda¹
(1) Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Naturales, Bucaramanga, Colombia

Introducción: *Candida palmioleophila* (*C. palmioleophila*) es una especie poco conocida que ha sido implicada como agente causal de endoftalmitis endógena y fungemias asociadas a catéter intravenoso. Se estima que su incidencia está alrededor del 1%, sin embargo, se considera que existe un subregistro debido a su similitud fenotípica con otras especies como *Candida guilliermondii* (*C. guilliermondii*) y *Candida famata*. Actualmente, se desconocen los factores de virulencia que utiliza esta levadura para asegurar su supervivencia y/o evadir los mecanismos de defensa del hospedero. Por lo tanto, en este trabajo se determinaron características biológicas asociadas a factores de virulencia en *C. palmioleophila* y los resultados obtenidos fueron comparados con otras especies del género *Candida*. **Metodología:** La actividad enzimática, formación de biopelícula y tubo germinal fueron evaluados en dos cepas de *C. palmioleophila*, una de origen ambiental (Nakase & Itoh 8040) y otra de origen clínico (NCYC-3373), igualmente fueron evaluados *Candida albicans* (*C. albicans*), *C. guilliermondii*, *Candida parasilopsis* (*C. parasilopsis*), *Candida utilis* (*C. utilis*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) y *Candida dubliniensis* (*C. dubliniensis*). La actividad esterasa, proteolítica, fosfolipasa y lipolítica se determinaron por mediciones del diámetro de la colonia sobre el halo de precipitación, y los resultados fueron expresados en términos de índice de actividad enzimática (Pz); la formación de tubo germinal se realizó mediante cultivo en caldo Sabouraud suplementado con suero bovino fetal en una proporción 2:1; para la formación de biopelícula se realizó según lo descrito por Gulati, 2018 y se cuantificó por el método colorimétrico de MTT (Bromuro-3(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difeniltetrazolio). **Resultados:** De las dos cepas evaluadas de *C. palmioleophila*, solo NCYC-3373 presentó actividad esterasa fuerte con un Pz de $0,62 \pm 0,02$; ambas cepas presentaron una débil formación de biopelícula y ninguna de las dos cepas presentó formación de tubo germinal. *C. albicans* presentó actividad esterasa, proteolítica y fosfolipasa con Pz de $0,16 \pm 0,06$, $0,53 \pm 0,02$, $0,52 \pm 0,04$ respectivamente, se observó un 44% de formación de tubo germinal y una fuerte formación de biopelícula. Respecto a las *Candida* no-*albicans*, la actividad proteolítica fue la más frecuente, con 5 cepas que mostraron un rango de actividad de débil a fuerte ($0,80 \pm 0,01$ a $0,38 \pm 0,01$), la formación de biopelícula fue débil y solo *C. dubliniensis* presentó formación de tubo germinal. **Conclusión:** La respuesta de *C. palmioleophila* frente a los factores de virulencia evaluados in vitro nos permite comprender que esta especie presenta el comportamiento esperado de una *Candida* no-*albicans*, ya que *C. palmioleophila* no desarrolló todos los factores de virulencia estudiados, a diferencia de lo observado con *C. albicans*. Los resultados presentados aportan a la comprensión de la biología del microorganismo, y estudios adicionales son necesarios para entender su interacción con el hospedero.

Financing: Contrato 861-2019, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Minciencias, UDES, Universidad de Santander, Empoderamiento comunitario para promoción de la salud y prevención de la enfermedad: Intervenciones desde la ciencia traslacional.

Análisis de conservación de secuencias de los componentes de la fimbria tipo 1 de *Escherichia coli*

Valentina Fernández Yáñez^{1,2}, Diego Rojas¹, Claudia Hormazábal¹, Valentina Ibaceta¹, Felipe Del Canto^{1,2}

(1) Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Av. Independencia 1027, Independencia, Región Metropolitana, Santiago, Chile

(2) Universidad de Santiago de Chile, Biología, Química y Biología, Av Libertador Bernardo O'Higgins, Estación Central, Región Metropolitana, Santiago, Chile

Las fimbrias chaperona-ujier (CU), comunes en bacterias Gram negativo, son ensambladas con la participación de una o más chaperonas, que exportan subunidades estructurales de la fimbria a través del ujier. *Escherichia coli* alberga un gran número de fimbrias CU como determinantes iniciales de infección, por lo que son consideradas potenciales terapias anti-adherencia. La caracterización de componentes de las fimbrias CU en y entre distintas cepas resulta relevante. En este estudio, se evaluó el grado de conservación de los componentes del sistema de la fimbria tipo 1 de *E. coli*, mediante tres estrategias distintas. Utilizando BLASTP, se identificaron y obtuvieron secuencias de los componentes del sistema, a partir de la base de proteínas de referencia (refseq_protein) y se determinó el nivel de conservación mediante alineamientos múltiples y matrices de identidad/similitud. Además, se evaluó la variabilidad utilizando el servidor Protein Variability Server. Las proteínas FimC y FimA presentaron menores porcentajes de identidad, 86,34% y 89,84% (132 y 387 secuencias analizadas, respectivamente), con una variabilidad máxima representada por el índice de entropía de Shannon ($H=0,5$ para FimA y FimC). Los componentes más conservados fueron las proteínas FimD y FimH, con identidades promedio de 99,5% y 98,9% (288 y 388 secuencias analizadas, respectivamente), y valores máximos de $H=0,5$. Además, se evaluó el grado de conservación de estos componentes, obtenidos a partir de un set de secuencias del locus fimAICDFGH, provenientes de 287 genomas de *E. coli*. Dentro de los genomas con alta identidad promedio para el locus (99,9%-95%), los componentes fimbriales con mayor grado de conservación fueron FimA, FimC y FimF (99% de identidad promedio), todos con variabilidad máxima $H=0,2$, seguido de FimD (97%), con variabilidad máxima $H=0,5$. Por otro lado, la proteína FimG presentó una identidad promedio de 54% y variabilidad máxima $H=1$. Finalmente, utilizando Large Scale BLAST Score Ratio (LS-BSR), se comparó la similitud de secuencias del locus fim y sus distintos genes, entre 17.881 genomas de *E. coli*, $BSR>0,9$. Todos los genes presentaron alto grado de conservación, observando que fimA tiene mayor variabilidad, con 369 registros de genomas $<0,9$, siendo fimD, fimF y fimH los más conservados, $BSR>0,99$. Dado que FimD resultó ser uno de los componentes con mayor grado de conservación, se comparó la secuencia aminoacídica madura con 13 proteínas ujier de fimbrias de la familia $\gamma 1$: StgC, ECs4667, ECs0594, SfmD, AufC, YcbS, FmIC, YdeT, FocD, SfaF, ECs4022, YraJ y LpfC1. Se analizó la conservación en dominios N-terminal (DNT), dominio tapón (DT) y dominios C-terminal 1 y 2 (DCT1 y DCT2). FimD comparte 46% de similitud (máx 63%-min 36%) con sus homólogos de la familia $\gamma 1$, existiendo 108 residuos idénticos y 28 residuos conservados en 13 de las 14 secuencias. La menor diversidad estuvo en DT ($H=1,2$ promedio) y en DCT1 ($H=1,4$ promedio). Por el contrario, DNT y DCT2 mostraron $H=2,1$ y 2,0, indicando mayor variabilidad, incluso mayor que proteínas completas ($H=1,8$). Estos resultados aportan conocimientos relevantes sobre la conservación de componentes de la fimbria tipo 1, que podrían orientar la identificación de blancos para terapias anti-adherencia.

Financing: Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT 1200979) ANID Becas/ Doctorado Nacional 21201275

Caracterización funcional del efector SseJ de Salmonella enterica serovar Typhimurium: secreción in vitro, expresión intracelular y rol en la supervivencia bacteriana en la ameba Dictyostelium discoideum

Constanza Morgado¹, Jaime Ortega¹, Gabriel Vera¹, Andrea Sabag¹, Camila Valenzuela^{1,2}, Sergio A. Álvarez¹, Carlos A. Santiviago¹

(1) Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(2) Dynamics of Host-Pathogen Interactions Unit, Institut Pasteur, Paris, France

Salmonella Typhimurium es una bacteria Gram negativo que provoca enterocolitis en el ser humano. Parte de su patogenicidad depende de los sistemas de secreción de tipo 3 (T3SS) codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2 (T3SS-1 y T3SS-2, respectivamente). SseJ es un efector de Salmonella que es translocado al citoplasma de la célula hospedera mediante el T3SS-2. Además, se ha reportado que una mutante Δ sseJ de S. Typhimurium presenta defectos en supervivencia intracelular en macrófagos murinos y es atenuada en ratones. A pesar de esto, no se ha estudiado el papel de este efector durante la interacción de Salmonella con hospederos alternativos. En este sentido, se ha propuesto que Salmonella utiliza mecanismos análogos a los observados en células hospederas animales para sobrevivir a la depredación por protozoos ambientales. De hecho, nuestro grupo ha reportado que S. Typhimurium requiere el T3SS-2 para sobrevivir en la ameba Dictyostelium discoideum, por lo que SseJ podría estar involucrado en este proceso. Para caracterizar la secreción de SseJ, se construyó el plasmidio pMMB207::sseJ-cyaA' que codifica una fusión de este efector con el reportero CyaA'. Este plasmidio se transformó en S. Typhimurium silvestre y en mutantes que poseen inactivado T3SS-1 o T3SS-2. La proteína SseJ-CyaA' se detectó mediante Western blot en el sedimento bacteriano de todas las cepas estudiadas. Sin embargo, sólo se detectó en el sobrenadante de cultivo de la cepa silvestre y de la mutante con el sistema T3SS-1 inactivado. Estos resultados confirman que SseJ es secretado in vitro a través del T3SS-2. Por otra parte, se evaluó la expresión del efector SseJ bajo condiciones inductoras de los genes asociados a SPI-1 y SPI-2 mediante la construcción una fusión génica cromosomal del gen sseJ al reportero cyaA'. La proteína de fusión generada se detectó mediante Western blot en bacterias crecidas bajo condiciones inductoras de SPI-2, pero no se detectó en bacterias crecidas bajo condiciones inductoras de SPI-1. Estos resultados confirman que la fusión se produce en respuesta a las señales ambientales que regulan la expresión del gen sseJ. Además, se evaluó la producción de SseJ-CyaA' desde la fusión cromosomal durante la infección de D. discoideum mediante Western blot. La proteína de fusión se detectó en bacterias intracelulares recuperadas desde amebas luego de 3 y 6 horas de infección, confirmando que dentro de D. discoideum existen las condiciones necesarias para la expresión y producción del efector. Finalmente, para evaluar el rol de SseJ en la interacción de S. Typhimurium y D. discoideum se realizaron ensayos de competencia donde se comparó la supervivencia intracelular de una mutante Δ sseJ y de la cepa silvestre en esta ameba. Nuestros resultados mostraron que la mutante Δ sseJ presenta defectos de supervivencia intracelular en D. discoideum a partir de 1 hora post infección. En conjunto, nuestros resultados indican que el efector SseJ es secretado mediante el T3SS-2, que se expresa al interior de D. discoideum y contribuye en la supervivencia intracelular de S. Typhimurium en esta ameba.

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844 y 1212075, y la beca CONICYT/ANID 21140615.

Mycobacterium leprae infection downregulates adenosine receptors as a possible mechanism of demyelinating phenotype in leprosy neuropathy

Plinio Santos¹, Bruno Mietto², Beatriz Junqueira³, Roberta Olmo³, Patrícia Martins⁴, Yago de Sá⁴, Vanessa Pereira⁴, Thabata Rosa¹, Chyntia Acosta⁵, Cristina Pessolani¹, Marcia Moreira¹

(1) Fundação Oswaldo Cruz, Cellular Microbiology Laboratory, Rio de Janeiro, Brasil

(2) Institute of Biological Sciences, Cellular biology, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora - Minas Gerais, Brazil

(3) Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Laboratory of Hansen's disease, Rio de Janeiro, Brasil

(4) Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Laboratory of inflammation, Rio de Janeiro, Brazil

(5) Universidad Nacional de Asunción., Departamento de Biología Molecular y Biotecnología., Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud., Assunção, Paraguay

introduction: Leprosy is a chronic infectious disorder caused by *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) and the contact or entry and persistence inside Schwann cells (SCs), the glial cells of the peripheral nervous system, provoke disruption of cell normal functions, culminating in early myelin dismantling of peripheral nerves. Besides amount studies, the molecular and cellular pathways underlying the observed demyelinating phenotype are largely unknown. Taking into consideration that *M. leprae* uses the purinergic signaling upon infection and knowing the involvement of this pathway for SCs functions and disease, in the present work we aimed to evaluate the role of A2a receptor in the demyelinating phenotype induced by *M. leprae* infection. In parallel, we investigated the involvement of additional adenosine receptors in the nerve of leprosy patients. Methodology: For studying myelin breakdown, we used primary SCs purified from the sciatic nerve of Balb/c mice that were stimulated or not with *M. leprae* dead (MOI 50:1). SCs were treated or not with A2a receptor agonists (Adenosine (ADO) and CGS21680 (100µM)) and antagonist (ZM241385 (1µM)). To corroborates our analysis, we also cultured SCs from A2a receptor knockout mice. Myelin analysis was performed by immunofluorescence for the Myelin Basic Protein (MBP), and qRT-PCR assays were employed to analyze the expression of the adenosine receptors, A1, A2A, A2B, and A3, for comparing nerve biopsies taken from leprosy patients and healthy individuals. Results: Our data shows that *M. leprae* infection decreases the expression of the A2a receptor and the MBP content, suggesting that infection accelerates myelin breakdown in primary SCs. We also observed that A2a receptor agonists, CGS21680 and ADO, partially reversed this effect, while the addition of the antagonist ZM241385 seems to potentialize the effect of *M. leprae*. It was also seen that SCs from knockout mice for the A2a receptor showed a lower expression of MBP compared to the wild-type animal, and this effect was even more pronounced in SCs *M. leprae*-infected. Gene expression analysis comparing healthy individual and leprosy patients suggested differential mRNA levels of ADO receptors; interestingly, we have observed a decrease in A2b, A1, A3 receptors; however, no difference was observed A2a receptor compared to the neuropathy group. Conclusion: Our findings suggest an important involvement of adenosine receptors during leprosy neuropathy and A2a receptor may be a target to preserve myelin and could be view as a potential therapy target pathway to restore myelin abnormalities in leprosy patients.

Financing: Financial Support: FIOCRUZ / IOC; CAPES, CNPq and FAPERJ

Mechanisms of transcriptional control of the fimbrial repertoire in A/E pathogens: the *ecp* operon as an example

María Inés Isidro-Coxca¹, Verónica I. Martínez-Santos^{1,2}, Andrés Escalera¹, Gustavo G. Caballero-Flores^{1,3}, Alejandra Vázquez¹, **José Luis Puente García¹**

(1) Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Microbiología Molecular,, Instituto de Biotecnología, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor., Mexico

(2) Universidad Autónoma de Guerrero-Cátedras CONACyT, Laboratorio de Investigación Clínica, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Av. Javier Méndez Aponte No. 1, Fracc. 10, Col. Servidor Agrario, Chilpancingo, Gro., Mexico

(3) University of Michigan Medical School, Department of Pathology and Rogel Cancer Center, Ann Arbor, MI, USA

The mouse pathogen *Citrobacter rodentium* shares 67% of its genes with enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), both causal agents of human diarrheal diseases around the world. These pathogens produce the A/E (attaching and effacing) lesion on the surface of enterocytes, which is mediated by the gene products encoded within the locus of enterocyte effacement (LEE). The genome of A/E pathogens possesses a vast repertoire of operons encoding surface structures called fimbriae or pili that often mediate adherence of these bacteria to host epithelial cells or other biotic or abiotic surfaces. The *E. coli* common pilus (ECP), present in commensal and pathogenic *E. coli*, has been shown to play a role in pathogenic *E. coli* interactions with environmental reservoirs and host epithelial cells in vitro. *C. rodentium* is used as a surrogate model to study A/E pathogenesis in the mouse model and thus is being used to study the functionality and regulation of the chaperone-usher family of fimbrial operons. As for *E. coli*, the *C. rodentium* *ecp* operon is a cluster of five genes (*ecpABCDE*) encoding proteins involved in the assembly of the fimbria, which expression is favored under laboratory conditions similar to those in *E. coli*. Interestingly, we have found that, in contrast to *E. coli*, CreR, a novel protein with a conserved cyclic-di-GMP phosphodiesterase domain, is essential and specific for *ecp* activation. Single and double mutants carrying an *ecp-cat* fusion and electrophoretic mobility shift assays (EMSA) showed that the global regulators IHF and H-NS control *ecp* expression positively and negatively, respectively. CreR and IHF were still needed even in the absence of H-NS. Moreover, a regulatory motif, named Distal Regulatory Element (DRE), is essential for CreR-mediated activation and perhaps the binding site of a positive regulatory protein responding to c-di-GMP levels. Using a synthetic chromogenic substrate, we found that CreR is a functional PDE; however, point mutations in conserved amino acids for PDE activity have only a partial or null effect in the CreR-mediated activation of *ecp* expression. We hypothesized that CreR has an additional novel regulatory function essential to activate *ecp* expression in *C. rodentium*. Our studies have revealed that the different chaperone-usher fimbrial operons of *C. rodentium* do not represent redundancy but rather functional diversity and are regulated by diverse and, in some cases, novel regulatory mechanisms.

Financing: This work was supported by DGAPA IN213516 and CONACyT CB-239659 and FC-2015-2/950 to JLP, 76204 to AEM and 463840 to MIIC.

Análise do papel de drogas inibidoras da via do mevalonato como moduladores da resposta imune de macrófagos infectados com *Mycobacterium leprae*: Uma nova perspectiva de tratamento

M.S. ROCHA¹, BERRÊDO-PINHO, M.¹, PESSOLANI, M.C.V.¹

(1) Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Instituto Oswaldo Cruz - IOC, Laboratory of Cellular Microbiology - LAMICEL, Av. Brasil, 4365 - Mangueiras, Rio de Janeiro, Brasil

Resumo: A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae* que resulta em graves danos ao tecido cutâneo e sistema nervoso periférico. O tratamento é longo, com potenciais recidivas, apresenta diversos efeitos colaterais e prejudica consideravelmente a qualidade de vida dos acometidos o que faz necessário o estudo e produção de novos candidatos que tenham como alvo componentes do hospedeiro para evitar a resistência antimicrobiana. A infecção de macrófagos pelo *Mycobacterium leprae* resulta em células com um aspecto espumoso devido ao acúmulo de lipídeos. A origem e natureza dos lipídeos presentes nestes macrófagos foram analisadas, sendo estes corpúsculos lipídicos enriquecidos em colesterol principalmente, e também triglicerídeos. Contudo, foi demonstrado que a viabilidade do bacilo foi reduzida juntamente da inibição da síntese de colesterol, através do uso das Estatinas que são drogas inibidoras da HMG CoA redutase, uma enzima da via de biossíntese do colesterol, e, além disso, foi visto que este colesterol não é utilizado como fonte de carbono e energia. Levando em consideração que o mecanismo de redução da viabilidade não é compreendido, e que as Estatinas inibem a síntese de isoprenóides, subprodutos da via de biossíntese do colesterol responsáveis por modificações pós-traducionais importantes para função de diversas proteínas, este trabalho tem como objetivo avaliar o envolvimento da prenilação de proteínas, modificação pós traducional que utiliza os isoprenóides como substrato, na redução da viabilidade do *M.leprae* e no aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias. Metodologia: Para estudar a modulação de produção de citocinas, através do ensaio Enzima-ligante de imunoabsorção (ELISA), foram utilizados macrófagos THP-1 estimulados ou não com *M.leprae*(MOI 10:1), tratados ou não com estatina, pamidronato(Bifosfonato nitrogenado) ou GGPP. Foram feitos experimentos de Western Blotting para corroborar com os resultados para avaliar a ativação da caspase-1. Resultado: Nossos resultados mostram que a inibição da enzima HMG CoA redutase pela Atorvastatina, e pelo pamidronato (inibidor da FPP sintase) modulam positivamente a produção da citocina pró-inflamatória IL-1 β . O isoprenóide GGPP foi capaz de reverter o efeito da estatina e do pamidronato, evidenciando um potencial papel da prenilação de proteínas neste contexto de aumento na produção desta citocina, assim como o mevalonato também foi capaz de resgatar este efeito causado pelas drogas inibidoras da via de biossíntese do colesterol. A ativação da caspase-1 foi evidenciada indicando uma relação do inflamassoma NLRP3 nesta liberação, através da expressão das porções p20 e p10 de caspase-1 efetora. Conclusão: Nossos achados sugerem um novo paradigma até então não explorado na Hanseníase aonde provavelmente a prenilação de proteínas que utilizam os isoprenóides como substrato, principalmente as GTPases, possuem um papel crucial e de extrema importância abrindo novas oportunidades de alvos específicos, do hospedeiro, evitando a resistência antimicrobiana com o objetivo de fornecer redução do tempo de tratamento e dos efeitos colaterais acarretados pelo tratamento atual, além de um melhor entendimento acerca dos motivos biológicos da subversão da via de biossíntese do colesterol e dos subprodutos desta via que até então não haviam sido explorados em Hanseníase.

Financing: Suporte Financeiro: FIOCRUZ / IOC; CNPq, FAPERJ e INOVA

Actividad antibacteriana de los T6SS codificados en las islas SPI-6 y SPI-19 de Salmonella Dublin e identificación de proteínas efectoras putativas

David Pezoa Aros¹, María F Barros-Infante¹, Dácil Rivera², Andrea I Moreno-Switt^{3,4}, Fernando Amaya⁵, Carlos A Santiviago⁵, Carlos J Blondel⁶

(1) Universidad Mayor, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias, Camino La Pirámide 5750, Santiago, Chile

(2) Universidad Andrés Bello, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Av. República 440, Santiago, Chile

(3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Biológicas, Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile

(4) Millennium Initiative on Collaborative Research on Bacterial Resistance (MICROB-R), Santiago, Chile

(5) Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santos Dumont 964, Santiago, Chile

(6) Universidad Andrés Bello, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Echaurren 183 y Avenida República 330, Santiago, Chile

Los Sistemas de Secreción Tipo VI (T6SS) se encuentran ampliamente distribuidos en bacterias Gram-negativo, contribuyendo a procesos que abarcan desde competencia interbacteriana a patogénesis. Los T6SS son sistemas contráctiles que inyectan proteínas efectoras hacia células procariontes o eucariontes. Salmonella enterica serovar Dublin (S. Dublin) es un patógeno adaptado a bovinos que posee dos T6SS, codificados en las islas de patogenicidad SPI-6 y SPI-19. Experimentos in vivo demostraron que ambos T6SS contribuyen a la colonización de S. Dublin CT_02021853 en ratones BALB/c. Este fenotipo podría estar asociado a actividad antibacteriana de los T6SS de S. Dublin contra la microbiota intestinal. Para evaluarlo, se construyeron mutantes de S. Dublin CT_02021853 con deleciones de uno o ambos sistemas y se realizaron ensayos de competencia in vitro utilizando la cepa silvestre o las mutantes generadas como “cepa atacante” y Escherichia coli K-12 como “cepa presa”. Nuestros resultados mostraron que las mutantes individuales en cada T6SS presentan actividad antibacteriana similar a la cepa silvestre. Sin embargo, la mutante que carece de ambos T6SS presentó una disminución de dos órdenes de magnitud en la actividad antibacteriana en comparación a la cepa silvestre; indicando que los T6SS de S. Dublin ejercen actividad antibacteriana y actúan de manera sinérgica. Posteriormente, se realizó un análisis bioinformático para identificar nuevas proteínas efectoras de los T6SS codificadas en las islas SPI-6 y SPI-19 de S. Dublin CT_02021853. En SPI-6 identificamos dos efectores con potencial actividad DNasa. Uno de ellos codificado en un ORF no anotado localizado entre los genes SED_RS24320 y SED_RS24325 que posee un dominio endonucleasa RHS/HNHc. El otro, codificado en el ORF SED_RS24315, posee un dominio Tox-URI2. Un tercer efector identificado en el ORF SED_RS1930 codifica una proteína RHS con dominio Ntox47 con actividad RNAasa. Estos tres efectores están codificados en elementos bicistronicos con sus correspondientes proteínas de inmunidad y su potencial actividad endonucleasa ha sido descrita en efectores de otros T6SSs que presentan actividad antibacteriana y antieucariótica. Por otra parte, en SPI-19 identificamos dos potenciales efectores antibacterianos (ORFs SED_RS06235 y SED_RS06335) y dos efectores con actividad antieucariótica (ORFs SED_RS06350 y SED_RS06350). El ORF SED_RS06235 codifica una proteína con dominio transglicosilasa y un dominio LysM (IPR018392). Ambos dominios suelen estar presentes en efectores con actividad antibacteriana. Interesantemente, el ORF SED_RS06335 codifica una proteína PAAR-RHS con un dominio C-terminal M91 peptidasa, sugiriendo que esta proteína puede ser un efector “trans-kingdom” (i.e., que presenta actividad antibacteriana y antieucariótica) similar al efector VgrG2b de P. aeruginosa. Cabe destacar que SED_RS06235 y SED_RS06335 están codificados en bicistrones con sus respectivas proteínas de inmunidad (SED_RS0623 y SED_RS06340). Finalmente, los ORFs SED_RS06350 y SED_RS06355 codifican proteínas con dos dominios tipo Sel1 (PFAM PF08238) en tándem previamente identificados en el efector LpnE de Legionella pneumophila, que modifica el tráfico vesicular en células eucariontes. En conclusión, los T6SS de las islas SPI-6 y SPI-19 de Salmonella Dublin CT_02021853 ejercen actividad antibacteriana contra E. coli K.12 y codifican efectores con actividad antibacteriana y/o antieucariótica putativa. Actualmente, la validación experimental de todos los efectores identificados se encuentra en desarrollo.

Financing: Este trabajo fue financiado con los proyectos FONDECYT 1181167, 1201805, 1171844, 1212075, HHMI-Gulbenkian International Research Scholar Grant 55008749 y NCN17_081 Millennium Initiative for Collaborative Research on Bacterial Resistance, MICROB-R.

Análisis in silico e in vitro de la interacción de la enolasa de *Haemophilus influenzae* con plasminógeno humano.

Yesenia Osorio Aguilar¹, Alejandro Carabarin Lima^{1,2}, María Cristina González Vázquez¹, Ygnacio Martínez Laguna¹, Patricia Lozano Zarain¹, Rosa del Carmen Rocha Gracia¹

(1) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Instituto de Ciencias, Posgrado en Microbiología, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, 22 Sur, Av San Claudio, Cd Universitaria, CP.72592, Puebla, México

(2) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Blvd. Valsequillo y Av. San Claudio, Ed. BIO 1 CU, Col, Jardines de San Manuel, CP72570, Puebla, México

INTRODUCCIÓN. *H. influenzae* es una bacteria Gram negativa, responsable de enfermedades invasivas como meningitis, neumonía, artritis séptica, bacteriemia (provocadas principalmente Hib). Las cepas de *H. influenzae* No Tipificable (HiNT), están asociadas principalmente a infecciones localizadas como otitis, conjuntivitis, sinusitis, neumonía y se asocian con EPOC. La enolasa (EC 4.2.1.11) es una metaloenzima que participa en la vía glicolítica en diversos organismos; sin embargo también es reconocida como receptor del plasminógeno, promoviendo su activación a plasmina y favoreciendo la degradación de componentes de la matriz extracelular². En múltiples patógenos se ha reportado el uso de este mecanismo para adherirse e invadir a las células del hospedero³, sin embargo para el caso de *H. influenzae* aún no se ha descrito. **OBJETIVO:** Determinar el papel de la enolasa de *H. influenzae*, como proteína de unión a plasminógeno humano mediante ensayos in silico e in vitro. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se realizaron ensayos de Far Western-blot con la enolasa recombinante de *H. influenzae* (rEnoHi) y el plasminógeno humano (Plg), ambas proteínas se migraron en un SDS-PAGE (10%), se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa, la interacción rEnoHi-Plg fue evidenciada utilizando anticuerpos policlonales anti-rEnoHi. Esta interacción se confirmó mediante ensayos de ELISA. Se realizó docking molecular de EnoHi y Plg (PDB 4A5T), mediante Patchdock (complementariedad de forma) y AutoDock Vina Tools (proteína-ligando) donde se utilizó el motivo putativo de unión a Plg (mEnoHi) como ligando y los dominios Kringle de Plg (K1-K5) como blanco. Los mejores modelos se seleccionaron con base en: mejor energía de afinidad Kcal/mol y formación de puentes de hidrógeno. **RESULTADOS Y DISCUSIÓN** La enolasa de *H. influenzae* presentó complementariedad de superficie con Plg y se identificó a mEnoHi en la región de la interfaz. El acoplamiento molecular del motivo de unión a plasminógeno (mEnoHi) correspondiente a: 251EFYKENGMYE261. establece la formación de puentes de hidrógeno en: eTyr253-pgGlu1 (K2), eTyr253-pgGly310 (K3), eGlu251-pgLys468/eLys255-pgArg471 (K5), con una energía de afinidad (Kcal/Mol) de: -3.9, -4.4 y -4.8, respectivamente. Este motivo demostró tener afinidad por los diferentes dominios Kringle del plasminógeno humano, presentando mayor afinidad por: K5>K3>K2. Nuestra predicción teórica es consistente con los datos in vitro, ya que tanto por Far Western- blot como por ELISA se logró evidenciar la interacción rEnoHi-Plg concentración dependiente. **CONCLUSIONES:** La interacción rEnoHi -Plg, indica que la enolasa de *H. influenzae* puede actuar como un factor importante de patogenicidad, promoviendo la degradación de componentes de la matriz extracelular del hospedero, mediante la activación del sistema plasminógeno/plasmina, permitiendo la invasión del tejido. **REFERENCIAS** Langereis, J. D., & De Jonge, M. I. (2015). *Emerging Infectious Diseases*, 21(10), 1711–1718. Pancholi, V. (2001) *Cell Mol Life Sci.* 2001 Jun;58(7):902–20. Ay, D. A., Fragoso, G., Bobes, J., & Laclette, J. P. (2018). Plasminogen-binding proteins as an evasion mechanism of the host 's innate immunity in. 0(August), 1–16.

Contribución de la proteína efectora SopB de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium en la evasión de la vía de degradación lisosomal en *Dictyostelium discoideum*

Marcela Zabner¹, Constanza Morgado¹, Jaime Ortega¹, Fernando Amaya¹, Camila Valenzuela^{1,2}, Sergio A. Álvarez¹, Carlos A. Santiviago¹

(1) Laboratorio de Microbiología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Dr. Carlos Lorca Tobar 964, Independencia, Santiago, Chile

(2) Dynamics of Host-Pathogen Interactions Unit, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux 75015, Paris, France

Entre los principales factores de virulencia de las bacterias del género *Salmonella* se encuentran los sistemas de secreción de tipo III (T3SS) codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2. Estos sistemas translocan proteínas de virulencia llamadas “efectores” desde el citoplasma bacteriano al de una célula eucarionte hospedera. Dentro de estos efectores se encuentra SopB, el cual es secretado por el T3SS codificado en la SPI-1 (T3SS-1). Este efector contribuye a la supervivencia intracelular de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) en células de mamíferos, siendo requerido para evitar la fusión de la “vacuola contenedora de *Salmonella*” (SCV) con los lisosomas, evitando la degradación de la bacteria. Recientemente, nuestro grupo demostró que SopB contribuye a la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en la ameba social *Dictyostelium discoideum*. En el presente estudio investigamos el rol del efector SopB de *S. Typhimurium* en la evasión de la degradación bacteriana por la vía lisosomal en *D. discoideum*. Para esto, se transformó la cepa silvestre y una mutante Δ sopB de *S. Typhimurium* con el plasmidio pFCcGi, que permite la expresión constitutiva de la proteína fluorescente mCherry. Luego, se infectó *D. discoideum* con cada una de estas cepas y posteriormente se añadió la sonda LysoTracker Green para marcar los lisosomas de la ameba. Cada infección se observó mediante microscopía confocal a distintos tiempos y se determinó el porcentaje de bacterias (fluorescencia roja) que colocalizaban con lisosomas (fluorescencia verde). Nuestros resultados mostraron que el porcentaje de bacterias intracelulares que colocalizan con lisosomas es significativamente más alto en las infecciones realizadas con la mutante Δ sopB en comparación con la cepa silvestre a los 30 min post infección. Esta tendencia también se observó a 1 h post infección. En conjunto, estos resultados indican que el efector SopB es requerido para evitar la degradación de *S. Typhimurium* por la vía lisosomal en *D. discoideum* durante tiempos tempranos de la infección.

Financing: Este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT 1171844 y 1212075, y las becas CONICYT/ANID 21140615 y 21191925.

Maturation of the actin-rich pedestal-like structure: the role of EspF on the cytoskeleton and intercellular junctions

Fernando Navarro-García¹, Paul Ugalde-Silva¹, Lucia Chavez-Dueñas¹, Waldir Elias²

(1) CINVESTAV, Cell Biology, Av. IPN 2508, Zacatenco, 07360, Mexico City, Mexico

(2) Instituto Butantan, Laboratório de Bacteriologia, Avenida Vital Brazil 1500, São Paulo, SP, 05503-900, Brazil

During pathogenesis of A/E pathogens, EPEC and EHEC are adhered to eukaryotic cells and then inject effector proteins by using a type III secretion system. Among these effectors EspF is found, which is a multifunctional protein. One of the main EspF functions is related to intercellular junction disruption. We have previously shown that EspF is able to bind directly ZO-1 and indirectly ZO-2 protein, redistributing them to the pedestal-like structure. EspF binds also directly to actin. Besides disruption of intercellular junction, EspF induces growing and maturation of the pedestal-like structures. Thus, these effects (pedestal maturation and intercellular junction disruption) could be related since EspF also contains proline-rich motifs recognized by SH3 domains (class I) and class III PDZ domain binding motifs, which might interact with proteins related to the actin cytoskeleton and intercellular junctional proteins, respectively. In this work, we determined the role of the EspF motifs and the junctional proteins on pedestal growing and maturation. During my presentation, I will show evidence that leads us to conclude that EspF is able to cause intercellular junction disruption probably by using its class III PDZ domain binding motif and disassembled ZO-1 is used for pedestal growing and maturation.

Financing: This work was supported by a grant from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT 221130) to FNG

**FISIOLOGÍA Y METABOLISMO MICROBIANO
O BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR MICROBIANA.**

Reductive Power Generated by *Mycobacterium leprae* Through Cholesterol Oxidation Contributes to Lipid and ATP Synthesis

Thabatta Andrezo¹, Maria Angela Marques², Zachary DeBoard², Kelly Hutchins², Carlos Adriano A. Silva¹, Christine R. Montague³, Tianao Yuan⁴, Julio J. Amaral⁵, Georgia C. Atella⁶, Patricia S. Rosa⁷, Katherine A. Mattos⁸, Brian C. VanderVen³, Ramanuj Lahiri⁹, Nicole S. Sampson⁴, Patrick J. Brennan², John T. Belisle², Maria Cristina V. . Pessolani¹, Marcia Berrêdo-Pinho¹

(1) Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de Microbiologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil

(2) Colorado State University, Department of Microbiology, Immunology and Pathology,, Fort Collins, Colorado, USA

(3) Cornell University, Department of Microbiology and Immunology, Ithaca, NY, United States

(4) Stony Brook University, Department of Chemistry, Stony Brook, NY, United States

(5) Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, Diretoria de Metrologia Aplicada às Ciências da Vida,, Laboratório de Química Biológica, Rio de Janeiro, Brazil

(6) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Bioquímica Médica, Laboratório de Bioquímica de Lipídeos e Lipoproteínas, Rio de Janeiro, Brazil

(7) Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, São Paulo, Brazil

(8) Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, Departamento de Controle de Qualidade,, Rio de Janeiro, Brazil

(9) Health Resources and Services Administration, Healthcare Systems Bureau, National Hansen's Disease Programs, Department of Health and Human Services, Baton Rouge, LA, USA

Upon infection, *Mycobacterium leprae*, an obligate intracellular bacillus, induces accumulation of cholesterol-enriched lipid droplets (LDs) in Schwann cells (SCs). LDs are promptly recruited to *M. leprae*-containing phagosomes, and inhibition of this process decreases bacterial survival, suggesting that LD recruitment constitutes a mechanism by which host-derived lipids are delivered to intracellular *M. leprae*. We previously demonstrated that *M. leprae* has preserved only the capacity to oxidize cholesterol to cholestenone, the first step of the normal cholesterol catabolic pathway. In this study we investigated the biochemical relevance of cholesterol oxidation on bacterial pathogenesis in SCs. Firstly, we showed that *M. leprae* increases the uptake of LDL-cholesterol by infected SCs. Moreover, fluorescence microscopy analysis revealed a close association between *M. leprae* and the internalized LDL-cholesterol within the host cell. By using *Mycobacterium smegmatis* mutant strains complemented with *M. leprae* genes, we demonstrated that ml1942 coding for 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD), but not ml0389 originally annotated as cholesterol oxidase (ChoD), was responsible for the cholesterol oxidation activity detected in *M. leprae*. The 3 β -HSD activity generates the electron donors NADH and NADPH that, respectively, fuel the *M. leprae* respiratory chain and provide reductive power for the biosynthesis of the dominant bacterial cell wall lipids phthiocerol dimycocerosate (PDIM) and phenolic glycolipid (PGL)-I. Inhibition of *M. leprae* 3 β -HSD activity with the 17 β -[N-(2,5-di-*t*-butylphenyl) carbamoyl]-6-azaandrost-4-en-3-one (compound 1), decreased bacterial intracellular survival in SCs. In conclusion, our findings confirm the accumulation of cholesterol in infected SCs and its potential delivery to the intracellular bacterium. Furthermore, we provide strong evidence that cholesterol oxidation is an essential catabolic pathway for *M. leprae* pathogenicity and point to 3 β -HSD as a prime drug target that may be used in combination with current multidrug regimens to shorten leprosy treatment and ameliorate nerve damage.

Financing: Fundação Oswaldo Cruz; National Institute of Allergy and Infectious diseases (NIAID) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Systemic Study of Glutathione Deficient *Enterococcus faecalis* in Response to Iron Excess

Victor Aliaga¹, Jorge Torres¹, Sebastián Gómez¹, Jaime Ortega¹, Gabriel Galvez¹, Mauricio Latorre^{1,2}

(1) Universidad de O'Higgins, Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 611, Rancagua, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, El Líbano 5524, Santiago, Chile

The oxidative stress in bacterial species is inherent to the use of O₂ and the iron (Fe), whose participation in the Fenton and/or Haber–Weiss reactions produce Reactive Oxygen Species (ROS) that damages cellular components such as DNA, membrane lipids and proteins. Therefore, ROS production must be tightly controlled to avoid toxicity and cell death. In this context, the glutathione (GSH), an intracellular molecule with antioxidant potential, is the best-characterized example of small molecules involved in ROS control through oxidation/reduction processes that render the ROS in harmless molecules. This is particularly important in bacterial pathogenic species from gastro-intestinal tract microbiota, such as *Enterococcus faecalis*, that have to deal with the variable availability of Fe caused by the response mechanisms of the host to confront bacterial infection. Therefore, using a mutant strain for Glutathione Synthetase gene (Δ gsh) and microarray analysis, we studied in a systemic way the response of *E. faecalis* to Fe excess under GSH absence. In the first instance, we found that in the absence of GSH, the *E. faecalis* Δ gsh strain did not show growth impairment compared to wild-type bacteria (WT) either, in excess or not of Fe. However, intracellular content quantification revealed that *E. faecalis* Δ gsh drastically diminished the intracellular content of Fe, reaching a two-fold difference in respect to WT. Subsequently, microarray analysis demonstrated that 237 and 392 genes were differentially expressed under Fe excess in *E. faecalis* Δ gsh and WT, respectively, from which only 45 genes were shared between both strains, indicating a different transcriptional response. Finally, Gene Ontology enrichment analysis of differentially expressed genes showed that WT and Δ gsh strain respond in a totally opposite way, promoting the expression of genes related to transcription and basal metabolism, respectively. In conclusion, the results show that, in the absence of GSH, *E. faecalis* induces a different response to the Fe excess, remarked by the drastic expelling of Fe content and the expression of a different genes-set. To our knowledge, this is the first work that studies in a systemic way the response to Fe excess under GSH absence.

Financing: Center for Mathematical Modeling, Grant/Award Number: AFB170001; FONDECYT N° 1190742; Center for Genome Regulation FONDAP 15090007; CUECH; Gobierno Regional Chile.

Análisis in silico de las interacciones proteína-proteína de la maquinaria de poliadenilación de *Entamoeba histolytica* para la identificación de blancos moleculares

Rodolfo Gamaliel Avila-Bonilla^{1,2}, Jorge Antonio Velázquez Guzman², Esther Ramírez-Moreno¹, Laurence A. Marchat¹

(1) Instituto Politecnico Nacional, Biomedicina Molecular, ENMH, Guillermo Massieu Helguera, No. 239, Fracc. "La Escalera", Ticomán, Ciudad de México, México., Mexico City, Mexico

(2) Universidad Autonoma del Estado de Mexico, Facultad de Ciencias, Instituto Literario 211, 5 de Mayo, 50000 Toluca de Lerdo, Méx., Toluca, Mexico

En las células eucariotas, la expresión de genes requiere de un procesamiento postranscripcional de los ARNm en el núcleo, el cual incluye capping del extremo 5', splicing y poliadenilación del extremo 3', para generar transcritos maduros. La formación de la cola de poli (A) en el extremo 3' facilita la exportación de ARNm al citoplasma, aumenta su estabilidad y mejora la eficiencia de traducción. Nuestro grupo de trabajo ha reportado que la maquinaria de poliadenilación de *Entamoeba histolytica*, el protozooario responsable de la amibiasis humana es necesaria para la supervivencia de los trofozoítos, lo que indica que los factores de poliadenilación son blancos moleculares valiosos para el control de los parásitos. Las interacciones proteína-proteína (IPP) juegan un papel clave en la predicción de la función de una proteína blanco y su capacidad farmacológica sobre un sistema biológico. Particularmente, la elucidación de las redes de IPP mediante enfoques de predicción basados en secuencias, análisis de árboles filogenéticos y análisis computacional de redes IPP, contribuye en gran medida a determinar todas las posibles vías de señalización involucradas en la función de una proteína blanco. Para definir todos los posibles blancos moleculares en la maquinaria de poliadenilación de *E. histolytica*, examinamos las bases de datos del genoma de los parásitos protozoarios que afectan a la salud humana, para encontrar secuencias que codifiquen marcos de lectura abiertos con similitud significativa a proteínas humanas homologas. Luego, determinamos el árbol filogenético de máxima verosimilitud para definir la proximidad evolutiva de los factores de poliadenilación entre diferentes especies. Además, nuestro análisis determinó los motivos estructurales de las proteínas CPSF73, CFIm25 y PAP con un papel clave en el proceso de poliadenilación en *E. histolytica*. Nuestros resultados sugieren que las proteínas de poliadenilación del parásito *E. histolytica* tienen una fuerte relación con las de otros parásitos unicelulares. Finalmente, en un intento por resolver la función de esta maquinaria, realizamos un análisis de redes complejas utilizando set de datos de distintas plataformas bioinformáticas para definir todas aquellas posibles vías de señalización y IPP involucradas con las proteínas de poliadenilación de *E. histolytica*. Los resultados sugieren que las proteínas EhCFIm25 y EhPAP son cruciales para las IPP involucrados en dos procesos diferentes: la poliadenilación y el splicing del ARNm. En conjunto, estos resultados sugieren que las proteínas CFIm25 y PAP son blancos moleculares potenciales para el control del parásito ya que participan en varios procesos bioquímicos de la expresión génica.

Financing: CONACyT-México (285467)

Mecanismos que regulan la secreción de proteínas a través del inyectisoma de EPEC

Miguel Ángel Díaz Guerrero¹, Arely Marcos Vilchis¹, Norma Espinosa¹, **Bertha González Pedrajo¹**

(1) Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, UNAM, Apartado Postal 70-243, CDMX, MÉXICO

Escherichia coli enteropatógena utiliza un sistema de secreción tipo III (inyectisoma) para translocar proteínas de virulencia (efectores) hacia los enterocitos, lo que conlleva a una diarrea aguda que puede ser fatal en niños menores de 5 años. Durante el ensamblaje de esta nanomáquina se secretan tres categorías de sustratos, las dos primeras (sustratos tempranos e intermedios) corresponden a componentes estructurales del SST3, mientras que la tercera categoría comprende a los efectores o sustratos tardíos. La biogénesis del SST3 ocurre de forma jerárquica y la secreción de sustratos a través de éste depende de la comunicación sincronizada de dos complejos proteicos llamados interruptores moleculares. Se sabe que el interruptor molecular dos (switch 2) está integrado por las proteínas SepL-SepD y que regula positivamente la secreción de sustratos intermedios y negativamente la de sustratos tardíos. En este trabajo se reporta que CesL también participa en la regulación de la jerarquía de secreción de sustratos. Se demostró que el fenotipo de secreción de una cepa carente de cesL es idéntico al de las mutantes en sepL y sepD, es decir, se abate la secreción de los sustratos intermedios mientras incrementa la de los tardíos, indicando que CesL posee un papel esencial en la jerarquía de secreción entre sustratos intermedios y tardíos. Consistente con este resultado, se demostró la interacción individual entre SepL-CesL y SepD-CesL y se mapearon las regiones de interacción entre estas proteínas. Interesantemente, al afectar la interacción de SepL y CesL con SepD, no se previene la hipersecreción de sustratos tardíos, por lo que sugerimos que la función principal de SepD en la regulación de la jerarquía es la de detener la secreción prematura de efectores y que la formación del complejo heterotrimérico SepL-SepD-CesL es esencial para el cambio de la especificidad de secreción. Los resultados de localización y estabilidad de SepL y CesL mostraron que a pesar de que su estabilidad se compromete en ausencia de sus compañeros de interacción, esto no afecta su asociación a la membrana. Adicionalmente, se demostró por primera vez la interacción entre CesL y las proteínas EscU y EscV del aparato de exportación, las cuales están directamente relacionadas con la regulación de la jerarquía de secreción de los sustratos. La información en conjunto sugiere que CesL tiene un papel activo en la regulación de sustratos por lo que proponemos un modelo en el que el complejo heterotrimérico SepL-SepD-CesL en conjunto con EscV forman una plataforma de acoplamiento de alta afinidad para la secreción de sustratos intermedios al mismo tiempo que se inhibe la translocación de sustratos tardíos. Finalmente, demostramos que existe una relación funcional entre el switch 2 y la plataforma de clasificación de sustratos localizada en la base del inyectisoma.

Financing: El presente trabajo se realizó con el apoyo de los donativos PAPIIT IN212420 de la DGAPA, UNAM y 284081 de CONACyT.

Expresión génica de STAT1 y STAT2 de células HT-29 infectadas con Rotavirus Wa y tratadas con *B. longum*

Felizardo Velderrain-Armenta¹, Patricia Tamez-Guerra², Ricardo Romero-Argüelles², Cesar Romo-Saenz², Guadalupe González-Ochoa¹

(1) Universidad de Sonora, Departamento de Ciencias Químicas Biológicas y Agropecuarias, Lázaro Cárdenas del Río No.100, Col. Francisco Villa, Navojoa, México

(2) Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Pedro de Alba S/N, Niños Héroes, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L., Nuevo León, México

Rotavirus (RV) se encuentra como una de las principales causas de muerte en niños menores de 5 años a causa de la deshidratación severa que la gastroenteritis aguda ocasiona, ante una infección viral los Interferones de tipo I (IFN-I) son la principal arma como respuesta temprana a la infección, los IFN-I son producidos y liberados por la célula infectada actuando de manera autocrina y/o paracrina uniéndose a receptores específicos activando la vía JAK/STAT, dicho estímulo induce la activación de las proteínas transductoras de señalización y activadoras de transcripción STAT1 y STAT2 que tienen como finalidad promover la transcripción de genes estimulados de interferón (ISG), estos actúan en distintas etapas del ciclo viral. Al igual que muchos patógenos RV posee un mecanismo para evadir esta respuesta inmune, esto es mediado por su proteína no estructural 1 (NSP1) que se dirige a los precursores de IFN induciendo su degradación, así como la interacción directa con las proteínas STAT1/2, el uso de probióticos ha demostrado una reducción en la intensidad y duración de los síntomas de la gastroenteritis causada por RV, pero su mecanismo completo de acción aún no ha sido elucidado, entre los más estudiados se encuentra *Bifidobacterium longum*, existen reportes donde los probióticos pudieran estimular la respuesta inmune ayudando a combatir enfermedades gastrointestinales. En este estudio se utilizó como modelo la línea celular HT-29 a la cual evaluamos la expresión génica de las proteínas STAT1 y STAT2 implicadas en la respuesta antiviral mediante qPCR, como adición se evaluó el uso de *Chlorella sorokiniana* como potenciador del efecto benéfico de *B. longum*. Primero se realizó un ensayo donde las células HT-29 fueron puestas en contacto con *B. longum*, *C. sorokiniana* o infectadas con RV Wa, tras 24 h se hizo una extracción del RNA total y se midieron los niveles de STAT1/2, esto mostró que *B. longum* no tiene influencia sobre la expresión de STAT1/2; en el caso de la infección con RV Wa como era de esperarse hubo sobreexpresión de dichos genes, sin embargo, se presentó una sobreexpresión aun mayor en contacto con *C. sorokiniana* todo esto con base a nuestro control. En segundo se realizó un ensayo donde primero se infectó a las HT-29 con RV Wa durante 1 h, posterior a eso se lavó y se inoculó con el probiótico *B. longum* y/o *C. sorokiniana* se dejó incubar y tras 24 h se realizó la extracción del RNA total y la medición por qPCR, los resultados mostraron una disminución en la expresión de STAT1/2 en el uso de *B. longum* o *C. sorokiniana* solos, en combinación se presentó un aumento en la expresión de STAT2 estos resultados en conjunto con la observación de una disminución en el efecto citopático en las células infectadas con RV Wa y tratadas con *B. longum* y/o *C. sorokiniana* pudieran sugerir un mecanismo de acción distinto al de una inmunomodulación para combatir la infección por RV Wa en células HT-29.

Evaluación de la temperatura como factor determinante en la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* autóctonos de Paraguay

Domitila Villalba¹, Cinthia Casal^{1,2}, Francisco Ferreira^{1,2}, Andrea Arrua^{1,2}, **Juliana Moura Mendes**¹

(1) Universidad Nacional de Asunción. Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas. San Lorenzo, Paraguay.

(2) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, San Lorenzo, Paraguay

Introducción *Aspergillus flavus* es un hongo cosmopolita y ubicuo que produce una variedad de metabolitos secundarios, entre los que se encuentra las aflatoxinas, que son hepatotóxicas, genotóxicas, teratogénicas y carcinógenas para humanos y animales. Como una de las primordiales estrategias para mitigar la contaminación por micotoxinas, es el conocimiento de la población fúngica y sus características, se propuso evaluar la influencia de tres condiciones de temperatura diferentes sobre la producción de aflatoxinas de dos aislados de *A. flavus* autóctonos de Paraguay. **Metodología** Para tal se realizaron los experimentos en el Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas de la Universidad Nacional de Asunción (CEMIT-UNA). Los aislados de *A. flavus* estudiados pertenecen a la Colección de Cultivos de Microorganismos de la Universidad Nacional de Asunción - CCM-UNA (FELACC, SI-70) y fueron aislados de maíz, en Paraguay. Se reactivaron los dos aislados de *A. flavus*, CCM-AS84 y CCM-AS35, cultivándolos en agar Papa Dextrosa (PDA) para posterior cultivo en medio de cultivo Extracto de levadura Sucrosa (YES). La producción de aflatoxinas (AFs) por los dos aislados fue evaluado en las temperaturas de 20°C, 30°C y 40°C; en intervalos de tiempo establecidos en: 7, 15, 21, 30 días de incubación. Se determinó la producción de aflatoxinas por cromatografía líquida de alta resolución – HPLC. Las muestras fueron consideradas positivas cuando presentaron un pico en un tiempo de retención similar al de cada estándar (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2). Se realizaron curvas de calibración de cada estándar para establecer los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) así como para la cuantificar las muestras positivas ensayadas. Para evaluar la diferencia estadística entre las concentraciones de AFs, se hizo comparación de medias con ANOVA two-way, con posterior prueba de múltiples comparaciones de Tukey con intervalo de confianza de 95% ($p < 0,05$) con el software estadístico GraphPad Prism® 8.1.2. **Resultados** El aislado CCM-AS84 produjo mayores concentraciones de AF a los 30 días a 30°C, mientras el aislado CCM-AS35 se mostró no productor de aflatoxinas en las condiciones ensayadas. Siendo así se concluye que la temperatura óptima para la producción de aflatoxinas es 30°C para aislados con potencial aflatoxigénicos y que CCM-AS35 no produjo aflatoxinas en las mismas condiciones ensayadas, tornándose un potencial candidato para futuros estudios como biocontrolador.

Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga a partir de bovinos de tambos en la provincia de Buenos Aires, Argentina

Rocío Colello¹, María Victoria Vélez¹, Marcelo Sanz¹, Daniel Fernandez¹, Ariel Roge², Claudia Vanderploeg², Analía Etcheverría¹, Nora Lía Padola¹

(1) UNCPBA, Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, CICPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, Arroyo Seco S/N, Tandil, Argentina

(2) Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán", Servicio Antígenos y Antisueros, Instituto Nacional de Producción de Biológicos, Av. Vélez Sarsfield 563, Buenos Aires, Argentina

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno emergente, causante de colitis hemorrágica o síndrome urémico hemolítico. El bovino es el principal reservorio de STEC, eliminada con sus heces, pudiendo llegar al hombre a través de la ingestión de alimentos, agua contaminada o por contacto directo con el cuero contaminado. La característica de STEC es su capacidad de producir y liberar toxinas, que se encuentran codificadas por los genes *stx1* y *stx2*. Posee otros factores de virulencia, como la intimina, codificada en el gen *eae*, la isla de patogenicidad de adherencia y autoagregación (LAA) que codifica genes como *hes*, *ihalaa*, *agn43*, *cah*, el plásmido pO113 que contiene distintos genes como *ihapla*, un megaplásmido que contiene los genes para una enterohemolisina codificada en el gen *ehxA* y una adhesina autoaglutinante codificada por el gen *saa*. El objetivo del estudio fue aislar y caracterizar fenotípicamente STEC provenientes de vacas en ordeño y terneros en guacheras en un tambo de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Se tomaron 100 hisopados rectales de vacas en ordeño (68 muestras -VO-) y terneros en guachera (32 muestras -TG-). Cada hisopo se cultivó en medio Luria Bertani durante 18 h a 37 °C. Posteriormente, se tomó una alícuota del crecimiento y se sembró en agar McConkey incubándose a 24 h a 37 °C. Se realizaron pooles de 5 colonias para detectar por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) los genes *stx1* y *stx2*. Si el pool era positivo, cada colonia individual se cultivó en 800 µl de LB durante 18 h a 37°C con agitación analizándose posteriormente por PCR los factores de virulencia: *stx2*, *stx1*, *ehxA*, *eae*, *saa*, *hes*, *agn43*, *ihalaa*, *ihapla*. De las 100 muestras analizadas, 33% fueron positivas a STEC, 25% pertenecían a VO y 50% a TG. Se aislaron 72 cepas, para el presente trabajo se seleccionó un aislamiento por muestra. De los 17 aislamientos seleccionados para ambas categorías se observó que en 8 aislamientos provenientes de VO se detectaron los perfiles *stx1* (3); *stx1*, *agn43*, *ihalaa*, *ihapla* (1); *stx1*, *stx2*, *ehxA*, *saa*, *ihalaa*, *ihapla* (1); *stx1*, *stx2*, *ihalaa*, *ihapla* (1); *stx1*, *ehxA*, *saa*, *ihapla* (1); *stx2*, *ehxA*, *saa* (1) y en 9 aislamientos de TG, los perfiles fueron *stx1*, *ehxA*, *eae*, *agn43* (1); *stx1*, *ehxA*, *eae*, *cah* (1); *stx1*, *ehxA*, *eae*, *ihalaa* (1); *stx1*, *ehxA*, *eae*, (1); *stx1*, *stx2*, *ehxA* (1); *stx1*, *ehxA*, *saa*, *ihapla* (1); *stx1*, *ehxA*, *eae*, (1); *stx1*, *ehxA*, *eae*, (2). De los 17 aislamientos, se determinaron 3 antígenos O diferentes (3 antígenos O130 y 1 antígeno O91 para VO y 2 antígenos O130 y 1 antígeno O26 para TG). STEC tiene una ecología compleja y el bovino cumple un rol significativo en la exposición del hombre a este patógeno. Nuestros estudios muestran que los aislamientos de STEC de bovinos poseen una alta variabilidad genética. Las características encontradas, tanto serotipos y genes de virulencia, reflejarían el potencial patogénico de las cepas STEC aisladas, y por lo tanto el potencial de dichas cepas para causar enfermedad en humanos.

Medio mínimo a base de nopal deshidratado para el crecimiento de *Lactobacillus* spp de origen humano: Potencial prebiótico del nopal

Maria de Lourdes Reyes Escogido¹, Claudia Mercedes Gómez Navarro¹

(1) Universidad de Guanajuato, Medicina y Nutrición, Blvd. Puente del Milenio 1001, Fracción Predio de San Carlos, León, Guanajuato, CP 37670, México

Diversos trabajos han documentado la estrecha relación que existe entre la microbiota intestinal y diversas enfermedades entre las que destacan la depresión, mal de Parkinson, obesidad, diabetes, etc. por lo que el interés por consumir productos naturales que ayuden al mantenimiento sano de esta microbiota ha aumentado considerablemente. Diversas especies del género *Lactobacillus* forman parte de la microbiota intestinal, así mismo, también pueden ser administradas de forma exógena (como probióticos) para enriquecer dicha microbiota. Además de los probióticos, una forma de enriquecer la microbiota nativa es la administración de prebióticos, siendo el nopal un producto que puede cumplir tal propósito. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial prebiótico de nopal deshidratado en cepas de *Lactobacillus* spp las cuales fueron previamente aisladas de heces humanas. Se elaboraron 3 diferentes medios de cultivo a base de nopal con el propósito de seleccionar aquél con la mínima composición que permita el crecimiento de las cepas a evaluar. Se formularon tres medios: 1) MRS-Nopal-Glucosa (MNG), todos los componentes del MRS sustituyendo la glucosa una mezcla (50/50) con Glucosa:Nopal-deshidratado, 2) Medio Nopal-peptona (NP), elaborado con 2% de nopal y 1% de peptona como únicos sustratos y 3) Medio nopal (N), elaborado solamente con 2% de nopal y se utilizó el medio MRS como control de crecimiento. Todos los medios fueron ajustados a un pH de 6.5 ± 0.2 y esterilizados a $121^\circ\text{C}/15$ min. Los medios se inocularon con un 1% de cultivo fresco de cada una de las cepas de *Lactobacillus* a evaluar, se incubaron en jarra de anaerobiosis a 37°C durante 48 hr, se incluyeron cada uno de los medios sin inocular como control negativo. Al finalizar el periodo de incubación, a cada cultivo se le determinó el pH incluyendo cada uno de los medios sin inocular, el cambio de este parámetro está asociado al crecimiento y/o metabolismo bacteriano. Se evaluaron 14 cepas, el promedio de los valores de pH después de los cultivos fueron de 3.86, 4.25, 4.6 y 5.43 para MRS, MNG, NP y N respectivamente, mientras que el pH de los medios sin inocular fue de 6.14, 6.17, 6.28 y 6.45 para MRS, MNG, MN y N respectivamente. El pH de los medios control después de la incubación con respecto al pH antes de incubar estuvo en el rango de 0.05 a 0.3 por lo que se puede decir que las condiciones de incubación no influyeron en el pH. Al comparar con los medios que, si fueron inoculados, se observa una reducción de 2.28, 1.92, 1.68 y 1.02 unidades logarítmicas para los cultivos en MRS, MNG, MN y N respectivamente, lo cual es de esperarse ya que entre más enriquecido el medio mayor crecimiento bacteriano y mayor reducción en el pH. De acuerdo con estos resultados, es posible que el nopal funcione como prebiótico, sin embargo, las bacterias tardan en adaptarse a este sustrato, por lo que se podría mejorar su eficiencia al complementar el producto con una fuente de proteínas.

Adaptations to halophilic conditions by the halophile *Aspergillus sydowii*

Ramon Alberto Batista García¹, Irina Jiménez-Gómez¹, Gisell Valdés-Muñoz¹, Tonatiuh Moreno-Perlin¹, Rosa R. Mouriño-Pérez², María del Rayo Sánchez-Carbente³, Jorge Luis Folch-Mallo³, Yordanis Pérez-Llano¹, Nina Gunde-Cimerman⁴, Nilda del C. Sánchez Castellanos⁵

(1) Centro de Investigación en Dinámica Celular, Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos., Cuernavaca, Mexico

(2) Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada, Mexico

(3) Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Mexico

(4) Department of Biology, Biotechnical Faculty. University of Ljubljana, Ljubljana, Eslovenia

(5) Centro de Ciencias Genómicas. Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Mexico

Water activity (a_w) is critical for microbial growth, as it is severely restricted at $a_w < 0.90$. Saturating NaCl concentrations (~5.0 M) induce extreme water deprivation ($a_w \sim 0.75$) and cellular stress responses. Halophilic fungi have cellular adaptations that enable osmotic balance and ionic/oxidative stress prevention to grow at high salinity. Here we studied the morphology, osmolyte synthesis and oxidative stress defenses of the halophile *Aspergillus sydowii* EXF-12860 at 1.0 M and 5.13 M NaCl. Colony growth, pigmentation, exudate and spore production were inhibited at NaCl-saturated media. Also, hyphae showed unpolarized growth, lower diameter, and increased septation, multicellularity and branching compared to optimal NaCl concentration. Trehalose, mannitol, arabitol, erythritol, and glycerol were produced in the presence of both 1.0 M and 5.13 M NaCl. Exposing *A. sydowii* cells to 5.13 M NaCl resulted in oxidative stress evidenced by an increase in antioxidant enzymes and lipid peroxidation biomarkers. Also, genes involved in cellular antioxidant defense systems were upregulated. This is the most comprehensive study that investigates the micromorphology and the adaptative cellular response of different non-enzymatic and enzymatic oxidative stress biomarkers in halophilic filamentous fungi.

Financing: This research was funded by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología of Mexico (Conacyt): Project Conacyt Vocaciones Científicas 1004; Project Conacyt-SEP-CB-285816; Project Conacyt-DADC-311684.

Estudio del genoma de una cepa de *Escherichia coli* productora de Toxina Shiga perteneciente al serotipo O22:H8 aislada de un bovino en Argentina

Wanderson Marques Da Silva¹, Mariano Larzabal¹, Nahuel Agustín Rivieri¹, Flavia Figueira Aburjaille⁴, Jim Bono³, Ariel Amadio², **Angel Cataldi**¹

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) - INTA/CONICET, Hurlingham, Argentina

(2) Instituto de Investigación de la Cadena Láctea IDICaL - INTA/CONICET, Rafaela, Argentina

(3) U.S Meat Animal Research Center, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Clay Center, Nebraska, USA

(4) Instituto de Ciencias Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) es un patógeno zoonótico transmitido por los alimentos y agente etiológico de la colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico en humanos. El ganado bovino es el principal reservorio de este patógeno. En un trabajo previo trabajo de grupo se demostró que una cepa de STEC aislada de un bovino perteneciente al serotipo O22:H8 (nombrada cepa 154) presentaba mayor adhesión celular y capacidad de formar biofilm con respecto a una cepa O157:H7. Además, en un ensayo in vivo, la cepa O22:H8 154 fue capaz de interferir en el proceso de colonización de la cepa O157:H7 en un bovino. Utilizando la secuenciación del genoma completo de la cepa O22:H8 154 y la genómica comparativa, predecimos un subconjunto de genes que fueron adquiridos por esta cepa, a través de la transferencia horizontal que podrían ser responsables por el fenotipo observado tanto in vitro como in vivo. El secuenciamiento fue hecho a través de la plataforma PacBio. Para el análisis genómico comparativo utilizamos el programa Roary. Para la predicción de islas genómicas, genes de virulencia y genes de resistencia a antibiótico se utilizaron los programas Genomic Island Prediction Software (GIPSy), la base de datos Virulence Factors DataBase (VFDB) y Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD), respectivamente. Hasta el momento, a través de este estudio genómico se identificó la presencia de genes importantes relacionados principalmente con la patogénesis de cepas STEC ubicados en islas genómicas. Entre estos genes están los genes *hes* y *tia* involucrados en la adhesión bacteriana y genes que codifican el sistema de secreción del tipo 6 que se relaciona principalmente con la formación de biofilm e inter bacterias de competencia. Además, nuestro análisis mostró que O22:H8 154 porta las siguientes variantes de la toxina shiga: *stx1c* y *stx2dact*, esta última es una variante inducible por moco. El análisis de genes de resistencia a antibióticos mostró que O22:H8 154 es una cepa multirresistente, y además, fueron encontrados genes relacionados a la resistencia a tetraciclina, beta-lactámicos y sulfonamida. Los resultados obtenidos en este estudio proporcionan información sobre la plasticidad genómica que alberga el genoma STEC y la importancia de las islas genómicas en la adaptación y patogénesis de la cepa O22:H8 154.

Financing: CONICET, INTA

Bioinformatic search of potential Laccase sequences from antartic and thermophilic *Geobacillus* ID17 strain genome

Rodrigo Cortés-Antiquera¹, Javiera Villanueva¹, Jenny M Blamey^{1,2}

(1) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Estación Central, Santiago, Chile

(2) Fundación Biociencia, José Domingo Cañas 2280, Ñuñoa, Santiago, Chile

Laccases (EC 1.10.3.2) are members of the multicopper oxidoreductase superfamily (Singh et al., 2017). These enzymes are able to oxidize several phenolics substrates as syringaldazine, guayacol, ABTS, congo red, remazol brilliant blue (RBB), among many others. Using oxygen as co-substrate they reduced the cupredoxin domain site of the enzyme and water is produced. Laccases are widely used in industrial applications such as textile dye decolorization, wastewater treatment, paper industry and lignin biodegradation (Espina G et al., 2021). For long time fungal laccases dominated the industrial area. However current research about enzymes isolated from extremophiles have demonstrated the interest on these enzymes, because they are very active and stable at high temperatures (as 80 °C and above) and alkaline pH conditions. Among extremophilic, one of the most described genus is *Geobacillus*, a gram-positive, aerobic and thermophilic bacteria. Fundación Biociencia has isolated an antarctic and thermophilic *Geobacillus* sp strain obtained from hot springs fumaroles in Deception island, maritime Antarctica. This strain was designed as ID17 and it has been characterized and sequenced. Under laboratory conditions, this strain growth at an optimal temperature range between 55 °C – 70 °C, with an optimal pH range of 5 – 8,8. For this reason, we propose that this *Geobacillus* ID17, could be a good source of thermoestable enzymes such as laccases. Our work aims to search laccase enzymes sequences from this antarctic *Geobacillus* ID17 genome, using bioinformatic tools such as Basic Local Alignment Tool Nucleotide (BLASTN), Conserved Domains from National Center of Biotechnology Information (NCBI), Protein Data Base (PDB), Swissmodel, ProtParam (ExPASy) and Brenda-Enzyme database. From this analysis we were able to identify the “multicopper oxidase 2975” sequence, which shows a high identity percentage with different *Geobacillus* strains, demonstrating be a very conserved enzyme. The predicted molecular weight (Mw) is 59 KDa, coincident with the Mw of other laccases described and purified in bacteria. Furthermore, our results showed that information obtained from the NCBI, confirm the presence of a domain similar, characteristic in the SufI superfamily domain. Evenmore, the aminoacid sequence of multicopper oxidase 2975, matches with several sequences of laccases from different bacterial species, including the most known recombinant laccase from *Bacillus subtilis* (CotA). All our bioinformatic evidences, support that multicopper oxidase 2975 from *Geobacillus* ID17 correspond to a laccase enzyme, with potential biotechnological applications.

Financing: Proyecto postdoctorado Universidad de Santiago de Chile año 2021 USA1956_DICYT

Fimbrias chaperona-acomodador en *Serratia marcescens*

ANGEL ANDRADE¹, Martín A. González-Montalvo¹, Faviola Tavares-Carreón¹, J. Fernando Espinosa-Pérez¹, Gloria M González¹

(1) Universidad Autónoma de Nuevo León, Microbiología, Facultad de Medicina, Monterrey, Mexico

S. marcescens es un bacilo Gram-negativo considerado un patógeno oportunista responsable de diferentes enfermedades, como neumonía, infecciones de tracto urinario, sepsis y queratitis. Este patógeno se caracteriza por su alta resistencia, principalmente intrínseca, a diferentes antibióticos y antisépticos. *S. marcescens* presenta diversos factores de virulencia, entre los que destacan citolisinas, lipasas, nucleasas, proteasas y fimbrias. Las fimbrias son apéndices filamentosos extracelulares necesarios para la adherencia a sustratos y para la formación de biopelícula. Las fimbrias chaperona-acomodador, también referidas como fimbrias CU (por sus siglas en inglés) son las más abundantes entre las especies de la familia Enterobacteriaceae. De acuerdo a la secuencia peptídica de la proteína acomodadora (FUP, por sus siglas en inglés), las fimbrias CU se clasifican en las familias α , β , γ , κ , π y σ . En *S. marcescens* se conoce poco acerca de las fimbrias CU codificadas en su genoma, así como la contribución de dichas estructuras en la patogénesis. En este trabajo se definió el fimbrioma de *S. marcescens* a través del análisis bioinformático de 39 genomas. Mediante la implementación de secuencias consenso de las FUP pertenecientes a las distintas familias se identificaron un total de 421 FUP distribuidas en los 39 genomas analizados. La clasificación de cada operón fimbrial se realizó de acuerdo a su filogenia y organización genética, distinguiendo 20 operones CU conservados a los cuales se asignó una nomenclatura sistemática. De acuerdo con su alta distribución, 6 operones CU conservados componen el fimbrioma core de *S. marcescens*. Adicionalmente, utilizando 2 aislados de *S. marcescens* de diferentes orígenes, SmUNAM836 (clínica) y Db10 (insecto), se determinó la expresión de cada uno de sus promotores fimbriales mediante fusiones al operón luxCDABE. Nuestros resultados evidenciaron que 3 de los denominados operones core (referidos como fgov, fpo y fps) presentaron la mayor expresión en ambas cepas. Por otra parte, la microscopía electrónica de transmisión reveló 6 morfologías fimbriales distintas presentes en *S. marcescens* SmUNAM836. Por último, mediante el sistema λ -Red se mutagenizaron los genes fgooC, fgovC y fpsC de *S. marcescens* SmUNAM836. La caracterización fenotípica de estas cepas reveló que la eliminación de estos genes impacta de manera diferencial en la formación de biopelícula, la motilidad tipo swarming y la agregación de levaduras.

Financing: PAICYT-UANL [CN885-19]

Determinación de la relevancia del factor de poliadenilación EhCFIm25 en *Entamoeba histolytica* mediante análisis proteómico

América Itzallana Salgado-Martínez¹, Rodolfo Gamaliel Avila-Bonilla¹, Esther Ramírez-Moreno¹, Carlos Alberto Castañón-Sánchez², César López-Camarillo³, Laurence A. Marchat¹

(1) Instituto Politécnico Nacional, ENMH, Laboratorio 2 de Biomedicina Molecular, Guillermo Massieu Helguera 239, Fracc. La Escalera Ticoman, GAM, CP07320, Ciudad de México, México

(2) Hospital Regional de Alta Especialidad de Oaxaca, Oaxaca, México

(3) Universidad Autónoma de la Ciudad de México, Posgrado en Ciencias Genómicas, Ciudad de México, México

En los organismos eucariontes, la poliadenilación del extremo 3' de los RNAm es un evento clave en la regulación de la expresión génica. Nuestro grupo de trabajo identificó la maquinaria de poliadenilación *Entamoeba histolytica*, el parasite protozoario responsable de la amibiasis humana y evidenció que la ausencia del factor de corte EhCFIm25, afecta la proliferación de los trofozoítos, su muerte y su virulencia, indicando que es un nuevo blanco molecular muy interesante. Por lo que, en este trabajo, se realizó el silenciamiento de EhCFIm25 y se realizó un análisis proteómico tipo "shotgun" para identificar las proteínas moduladas por la ausencia de EhCFIm25 que podrían explicar el fenotipo de los parásitos. Los resultados evidenciaron que 75 proteínas presentaron cambios en su abundancia. De manera interesante, mediante análisis STRING, GO-term, y KEGG, así como la revisión de la literatura publicada en ese contexto, las proteínas moduladas fueron relacionadas con tres procesos importantes: la glicolisis y metabolismo de carbonos, la dinámica del citoesqueleto y virulencia del parásito, así como la expresión génica y modificación de proteínas. Queda pendiente realizar estudios adicionales para confirmar las hipótesis emitidas a partir de los datos proteómicos para obtener un mejor panorama de los mecanismos moleculares desregulados por la ausencia de EhCFIm25 en los trofozoítos de *E. histolytica*.

Financing: Este trabajo fue apoyado por CONACyT-México (285467)

Identificación molecular de especies de la familia Anaplasmataceae en bovinos lecheros utilizando tecnología MAGPIX®

Raquel Pedrozo Prieto¹, Liz Castro Rojas², Bhumika Sharma³, Giselle Cino⁴, Roman Ganta⁵, Melinda Wilkerson³

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Ruta Mariscal Estigarribia Km 10,5 Campus UNA, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Reproducción y Genética, Facultad de Ciencias Veterinarias, Ruta Mariscal Estigarribia Km 10,5 Campus UNA, San Lorenzo, Paraguay

(3) St. George's University, Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Grenada West Indies

(4) Oklahoma State University, Oklahoma Animal Disease and Diagnostic Laboratory, Oklahoma, USA

(5) Kansas State University, Center of Excellence for VectorBorne Diseases and Kansas State Veterinary Diagnostic Laboratory, College of Veterinary Medicine, Kansas, USA

Anaplasma spp. y Ehrlichia spp. de la familia Anaplasmataceae, son proteobacterias intracelulares transmitidas principalmente por garrapatas, que pueden causar graves enfermedades en vacas lecheras, ocasionando importantes pérdidas económicas en los hatos lecheros. La aplicación de técnicas moleculares que permitan diagnósticos rápidos y efectivos, representan herramientas de gran relevancia en el campo de la producción pecuaria. En ese contexto, la tecnología molecular MAGPIX® (Luminex, Austin, Texas, US) consiste en un ensayo de hibridación de PCR multiplex que utiliza oligonucleótidos específicos acoplados a microesferas supermagnéticas fluorescentes xMAP, que permite la detección específica y simultánea de numerosos patógenos en una sola muestra y en un corto período de tiempo. A nivel local no existe evidencia científica publicada de diagnóstico molecular de Anaplasmataceae en vacas lecheras, siendo este el primer trabajo de investigación, implementando esta tecnología. El objetivo de este trabajo fue identificar molecularmente a especies de la familia Anaplasmataceae en ganado de lechero de una granja utilizando la tecnología MAGPIX®. La metodología fue la siguiente: El ADN se extrajo utilizando kit comercial, a partir de 50 muestras de sangre de vacas lecheras de un rebaño ubicado en San Lorenzo, Paraguay. La técnica se realizó en Grenada, West Indies y consistió en un ensayo de hibridación de PCR, amplificando el fragmento ARNr16S que contiene regiones hipervariables internas de Anaplasma marginale, Anaplasma platys, Ehrlichia canis, Ehrlichia chaffeensis, Ehrlichia ewingii y Ehrlichia ruminantium. Estas secuencias de oligonucleótidos específicas fueron utilizadas como base y acopladas a unos sets de seis diferentes microesferas magnéticas fluorescentes que fueron detectados como una imagen por la cámara dentro del equipo. La información generada fue analizada como intensidad fluorescente media (MFI) mediante el software xPONENT 4.2. Las muestras positivas fueron aquellas que presentaron valores de MFI ≥ 3 . La frecuencia de positivos se determinó aplicando estadística descriptiva. Los resultados fueron: Del total de muestras analizadas, el 82% (41) de las vacas lecheras fueron positivas a Anaplasma marginale. El valor medio de MFI en los animales positivos fue 19,8 con 9,36 de desvío estándar (DE), con rangos de 3,36 a 32,26 de MFI. No fueron detectadas otras especies de Anaplasma y Ehrlichia en las muestras estudiadas. La conclusión fue que la única especie reportada utilizando la tecnología MAGPIX® fue A. marginale, indicando la alta frecuencia de este organismo en el establecimiento estudiado.

Financing: Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, San Lorenzo, Paraguay; St. George's University School of Veterinary Medicine, Grenada West Indies y Kansas State University College of Veterinary Medicine, Kansas, USA.

Estudios del sesgo de codones en la regulación de la traducción y en la fisiología de *Escherichia coli*.

Daniela González Valderrama¹, Omar Orellana Orellana¹

(1) Universidad de Chile, Programa Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Independencia #1027, Santiago, Chile

El código genético es redundante, lo que implica que más de un codón puede decodificar el mismo aminoácido (codones sinónimos). La elección de los codones sinónimos presentes en cada gen no es al azar, ya que puede afectar la eficiencia de la traducción, el plegamiento y los niveles de las proteínas codificadas, siendo esto una presión de selección. En bacterias, la traducción se regula en parte por la interacción sRNA-mRNA en la que participa la chaperona de RNA Hfq en procesos como el metabolismo celular, adaptación a estrés, motilidad, entre otros. Nuestro laboratorio describió que en *E. coli* las regiones codificantes de los mRNA que interactúan con sRNAs presentan un sesgo por codones de bajo uso (no preferentes), en cambio el gen de la proteína Hfq presenta un sesgo por codones de alto uso (preferentes). Con el objetivo de evaluar el efecto del sesgo de codones sobre la función celular se realizaron cambios de codones preferentes por no preferentes en el gen *hfq* en la cepa de *E. coli* BW25113 con el fin de evaluar el efecto sobre la traducción y el plegamiento de la proteína. Mediante recombinación homóloga se generó una colección de mutantes de *hfq*, las cuales presentan cambios de 14 codones preferentes por no preferentes al azar (del codón 42 al 56). La construcción genética lleva además el gen de resistencia a cloranfenicol y una etiqueta de histidina en el carboxilo terminal de Hfq. Los resultados indican que algunas mutantes presentan alteraciones en el fitness celular y otras presentan diferencias en sus curvas de crecimiento, principalmente en fase exponencial y estacionaria; cuando se compara con la cepa control. A nivel molecular, las alteraciones de los codones sinónimos en el gen de *hfq* afectan los niveles del mRNA de algunas mutantes, pero no se observaron diferencias en los niveles de la proteína.

Financing: Proyecto Fondecyt N°1190552

Genómica comparativa de tres cepas de *Escherichia coli* Uropatogénica UPEC recurrentes de México.

Marco Antonio Flores^{1,2}, Sara A Ochoa², Juan Xicohtencatl-Cortes², Ariadna Cruz-Córdova², Yolanda López-Vidal¹, Miguel A Cevallos¹

(1) Universidad Nacional Autónoma de México, Doctorado en Ciencias Biomédicas, CDMX, México

(2) Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Laboratorio de Investigación en Bacteriología Intestinal, CDMX, México

Introducción: Las infecciones del tracto urinario (ITU) son un problema de salud pública en México y el mundo, el principal agente etiológico de estas infecciones es *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC). La mitad de todas las mujeres sufrirán al menos un episodio a lo largo de su vida, y un porcentaje de ellas desarrollará una ITU -recurrente (ITU-R) caracterizada por dos o más periodos sintomáticos de ITU en 6 meses o más de 3 episodios en un año. Se han propuesto dos posibilidades para este fenómeno, el primero ocurre por una reinfección por un microorganismo proveniente del exterior, sin embargo en el 5% de los casos esta recurrencia se debe a la reactivación de reservorios dentro del epitelio de la vejiga. En este proyecto se analizarán con herramientas bioinformáticas 3 genomas completos provenientes de cepas de UPEC de ITU-R, buscando los determinantes genéticos responsables del fenotipo recurrente. **Justificación:** La ITU-R es un problema de salud que disminuye significativamente la calidad de vida y aumenta el costo del tratamiento para las unidades. La busca de los elementos responsables de la recurrencia permitirá desarrollar estrategias para la prevención y el tratamiento de estas infecciones. **Objetivos:** Analizar la secuencias para detectar los genes de resistencia, virulencia y aptitud, compararlos con los genes disponibles en las bases de datos, realizar un mapa de similitud y determinar los factores únicos de estas cepas. **Materiales y métodos:** Tres cepas clínicas provenientes de mujeres con ITU-R fueron aisladas de biopsia vesical, el genoma fue purificado y secuenciado con las plataformas ILLUMINA y PacBio. La búsqueda de virulencia y resistencia se realizará con VirulenceFinder y ResFinder, respectivamente. El análisis filogenético y de similitud se realizará con EDGAR 3.0 y MAUVE, se buscarán profagos con la plataforma PHASTER, la curación de la base de datos y los resultados se realizará manualmente. De manera paralela se realizarán ensayos de susceptibilidad, formación de película, adherencia e invasión. **Resultados:** Las muestras de biopsia pertenecen a tres pacientes femeninas de entre 30 y 60 años con un historial de ITU-R, el tratamiento elegido fue terapia con antimicrobianos y con infusiones intravesicales de hialuronato. Se tomó una biopsia vesical y se recuperó *Escherichia coli* que fue corroborada por el sistema VITEK. Las tres cepas se denominaron UTI-1, UTI-2 y UTI-3 se realizaron pruebas de sensibilidad a los antibióticos mostrando que eran sensibles, BLEB y solo a resistencia a menos de 3 grupos de antibióticos. Los resultados de genes de resistencia mostraron la presencia de genes bla, sul, tet, etc. En futuros análisis en este aspecto se enfocarán en las características de estos genes. El análisis de islas de patogenicidad reveló entre 30 y 45 probables sitios, comparados con CFT073. Un análisis más profundo reveló la presencia de genes de virulencia de nuestro interés, como son adhesinas, invasinas y sideróforos. **Conclusión:** El análisis de genoma completo de las tres cepas clínicas ha ofrecido hallazgos interesantes que pueden ser la base para futuros trabajos.

Financing: Xicohtencatl-Cortes J HIM-2017-137-SSA.1432 Ochoa SA HIM-2018-045-SSA.1507 Xicohtencatl-Cortes J HIM-2019-038-SSA.1592

The LPS integrity affects flagellar motility in *Salmonella Typhimurium*

Fernanda Manieri¹, Cristiano Moreira¹

(1) Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP, Rod. Araraquara-Jau, km 01, Araraquara, Brasil

Salmonella Typhimurium is a major foodborne pathogen that causes gastroenteritis in human and animal hosts. Chemical signalling promotes the interaction between bacteria and the host microbiota, which culminates in virulence regulation. The O-antigen is part of LPS in gram negative bacteria and protects the cell from antimicrobial substances, phagocytosis and killing by the complement system. *Salmonella Typhimurium* presents a tri-modal distribution of O-antigen chains, that is controlled by the co-polymerases WzzST (WzzB) and WzzfepE (FepE). VisP is a virulence and stress-related periplasmic protein that has a role in membrane maintenance and pathogenesis. The aim of the study was to evaluate the role of WzzST and WzzfepE, as well as the periplasmic protein VisP in flagellar motility. The single mutants $\Delta visP$, $\Delta wzzsT$, $\Delta wzzfepE$, double mutants and complemented strains were obtained by Lambda red mutagenesis. Swimming and swarming motility tests were performed in Luria Bertani (LB) with 1% and 2% NaCl to compare WT and mutant strains under osmotic stress. The qRT-PCR was performed to verify the *fliC* gene expression in mutant strains compared to wild type (WT) levels. A Western blot using anti-FliC monoclonal antibody was performed to check flagellin expression in mutant strains compared to WT levels. A similar pattern of swimming motility was observed in both LB and LB 2% NaCl among the mutant strains and the WT; however, the swarming motility was affected in all mutants when compared to the WT halo size. The *fliC* gene was overexpressed in the double mutant $\Delta visP/wzzST$, and so was the protein expression, but the amount of FliC secreted does not result in increased phenotype. Together, these data have shown the correlation of O-antigen, the periplasmic protein VisP and their role in membrane integrity, flagellar assembly and motility, which helps *S. Typhimurium* in respond to different environments and culminates in virulence.

Financing: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance code 001. Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - 19/03049-7.

Antivirulence approach for Uropathogenic *Escherichia coli* ST131 with QseC inhibitor

Bruna Lustri¹, Tamara Ribeiro¹, Patrick da Silva², Isabela Martins¹, Cristiano Moreira¹

(1) São Paulo State University- UNESP, Biological Sciences Department, School of Pharmaceutical Sciences

(2) University of São Paulo - USP, Department of Immunology, Neuroimmune Interactions Laboratory

Urinary tract infections are commonly found worldwide, whereas Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is the most prevalent pathogen, responsible for utmost cases of cystitis and acute pyelonephritis. The pathogenicity of UPECs is related to the expression of several virulence factors, and the regulation of the expression of these factors is mediated by chemical signaling molecules. The communication inter-intra-kingdom and cell-to-cell allows and facilitates the process of colonization and establishment of pathogenesis. QseBC two-component system can recognize signals produced by the host leading to regulation of pathogen virulence gene expression. This system consists of membrane sensing protein (QseC) and a cytoplasmic response regulator (QseB) that mediate the entire cascade of virulence genes. Reports of *E. coli*, classified according to various gene loci, common in different strains, designated by Sequence Type (ST), of which ST131 that has been reported for more than 10 years around the world. The ST131 clones have a large interest in medicine because they are producers of an extended spectrum β -lactamase (ESBL) known as CTX-M-15, which promotes betalactam resistance beyond fluoroquinolone resistance, making antimicrobial therapy difficult, highlighting the need for development of new therapies. Studies conducted by our group showed attenuation of the virulence of Gram-negative pathogens in the absence of the *qseC* gene, leading to the development of molecules that act by inhibiting this pathway such as LED209. The aim of the present study was to characterize the activity of LED209 in EC958 and BR43 UPEC ST131. The use of LED209 was employed to attenuate the virulence against these pathogens. The results with LED209 showed significant effect on reducing biofilm formation in the tested strains, however, showed no significant effect on motility swimming test. The gene expression study shown decrease expression of *fimH* in EC958 (-111x) and BR43 (-2.6x) treated with 5nM of LED209 compared to non-treated strains. These results have opened perspectives to further studies of the influence of LED209 on virulence gene expression of UPEC, as well as point out the need to understand the role played by QseC in these worrisome bacterial pathogens infection.

Financing: FAPESP N° 2019/26696-8 FAPESP N° 2019/03049-7

QseC sensor kinase plays a crucial role in the gut microbiota fitness and SCFA production during EAEC Stx+ infection

Tamara Renata Machado Ribeiro¹, Mateus Kawata Salgaço², Miriam Aparecida da Silva³, Roxane Maria Fontes Piazza³, Katia Sivieri², Cristiano Gallina Moreira¹

(1) Department of Biological Sciences, School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (UNESP), Araraquara, SP, Brazil

(2) Department of Food and Nutrition, School of Pharmaceutical Sciences, State University of São Paulo (UNESP), Araraquara, SP, Brazil

(3) Bacteriology Laboratory, Butantan Institute, São Paulo, SP, Brazil

Gut microbiota mediates important processes in the maintenance of human health and the imbalance in this population may result in serious problems during infectious process. Short chain fatty acids (SCFA) such as acetate, propionate and butyrate are the main metabolites produced by members of this microbiota and account for about 90% of its total composition. In addition, these metabolites play an important role in intestinal homeostasis. Infectious diarrhea is a worldwide public health problem caused by several pathogens, such as enteroaggregative *E. coli* (EAEC). In 2011 a major hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome outbreak started in Germany and spread to many European countries, caused by EAEC O104:H4 Stx+ strain, a hybrid pathogen harboring classic EAEC virulence genes and Shiga toxin 2a, commonly encoded by EHEC. The two-component system QseBC is found in enterobacteria and mediates cellular communication between bacteria and their mammalian host via AI-3/Epi/NE to coordinate bacterial survival, as well as virulence genes expression. The aim of this study was to analyze the intestinal microbiota modulation by EAEC O104:H4 C227-11 Stx+ WT and *qseC* mutant *in vitro* and *in vivo*. *In vitro* tests were performed using the colon infection model SHIME® (Human Intestinal Microbial Ecosystem) from the introduction and stabilization of human microbiota in the reactors. After this period, the reactors were infected with 10¹⁰ CFU of C227-WT or *::qseC*, and microbiota phyla and genera were monitored for 3 days p.i. via qRT-PCR and SCFA production via gas chromatography. Mice were infected in the same way mentioned above and for the same period for microbiota composition analysis via qRT-PCR. During SHIME infection with the C227-11 WT strain there was a predominance of γ -Proteobacteria on days 2 and 3 p.i., reaching 83% on the last day, and *Lactobacillus* sp. was predominant in the three days of infection, presenting about 90% in this period. However, on day 3 p.i. with the C227-11::*qseC* strain, only 8% of γ -Proteobacteria and a predominance of 82% of *Lactobacillus* sp. were evidenced. SCFA production have not showed significant changes during C227-11 WT strain assay period, differently, a gradual increase in acetate production was demonstrated during the three days analyzed in the absence of *qseC*. Similarly, during mice infection with the C227-11 WT strain there was the predominance of *Lactobacillus* sp. on days 1 and 3 p.i., and the predominance of *Lactobacillus* sp. and *Bacteroides* sp. on day 3 p.i. during *qseC* mutant strain infection. The data showed a large imbalance in the gut microbiota composition during C227-11 WT infection and that the microbiota could not be recovered until the last day in the SHIME model. On the other hand, in the *qseC* absence recovery was evidenced for both, phylum and genus on day 3 p.i., in addition to large acetate production. Mice experiments have demonstrated similar results compared to *in vitro* assays. In conclusion, these data emphasize the role of QseC during the infectious process by EAEC Stx+ in the gut microbiota modulation.

Financing: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Brazil - Finance Code 001 and FAPESP (2019/03049-7).

GENOTIPIFICACIÓN MOLECULAR DE POBLACIONES DE TRYPANOSOMA CRUZI PRESENTES EN ESPECIES SECUNDARIAS DE TRIATOMINOS CAPTURADOS EN ETAPA DE VIGILANCIA ENTOMOLÓGICA ENTRE LOS AÑOS 2010-2016 EN LAS REGIONES ORIENTAL Y OCCIDENTAL DEL PARAGUAY

Daysi Pineda¹, Zunilda Sánchez¹, Leticia Rojas¹, Graciela Russomando¹, Berta Paredes²

(1) Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Biología Molecular y Biotecnología

(2) SENEPA, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Departamento de Entomología

El principal vector del *Trypanosoma cruzi* en América del Sur ha sido el *Triatoma infestans*, sin embargo en la última década se ha declarado la disminución de la transmisión de la enfermedad por esta especie en áreas endémicas. El *T. cruzi* interactúa con triatomíneos silvestres y reservorios mamíferos, por lo que el riesgo permanente de la invasión de viviendas por especies secundarias como *Triatoma sordida*, *T. guasayana*, *Pastrongilus megistus* y otras, deben ser vigiladas para evitar el proceso de domiciliación. Tradicionalmente se ha considerado que *T. cruzi* está compuesto por una población de parásitos muy heterogénea, sin embargo, el gen *miniexón* y los genes 24Sα rRNA y 18S rRNA han demostrado que las poblaciones de *T. cruzi* pueden agruparse en 6 grupos de *T. cruzi*: TcI al TcVI. La identificación de genotipos de *T. cruzi* en triatomíneos que circulan en una determinada región y su localización intra o peridomiciliar, son indicadores que permiten conocer la dinámica de transmisión del parásito. Este estudio se planteó con el objetivo de detectar infección natural en especies secundarias de triatomíneos capturados en etapa de vigilancia entomológica en áreas endémicas del país; genotipificar *T. cruzi* por PCR con cebadores de genes constitutivos, como el *Miniexón* y 24Sα rRNA y electroforesis capilar en forma automatizada (analizador genético ABI 310) se emplearon productos de PCR obtenidos con cebadores de *Miniexón* y 24Sα rRNA marcados con fluoróforos. Se analizaron un total de 759 ejemplares (4 especies), capturados en el intra y peridomicilio; 62 y 697 ejemplares respectivamente, en 7 departamentos de las dos regiones del Paraguay durante los años 2010 al 2016. Se detectó infección natural con *T. cruzi* en 17 ejemplares. Se identificaron genotipos de *T. cruzi* en 6 ejemplares, 4 en la especie *T. sordida* (2 del genotipo TcI; de los cuales 1 ejemplar fue del intradomicilio, 1 TcIII y 1 TcV), 1 (TcIII) en la especie *T. guasayana* y 1 (TcIII) en la especie *P. geniculatus*, este último del intradomicilio. En las 11 muestras positivas restantes no fue posible la identificación de genotipos de *T. cruzi*, se estima que esta baja sensibilidad en la detección de genotipos pudo deberse a la baja cantidad de parásitos presentes en las muestras. Para estandarizar la genotipificación en el ABI 310 se emplearon 4 cepas de referencias de *T. cruzi* correspondientes a los genotipos TcI, TcII, TcV y TcVI, se observó reproducibilidad en los electroferotipos, como también fue factible estimar los rangos de tamaños esperados para los genes *miniexón* y 24αS para la mayoría de los genotipos. Los datos obtenidos ponen en evidencia la importancia de la vigilancia de triatomíneos y la detección de *T. cruzi* en áreas rurales, donde los reservorios y vectores silvestres son capaces de participar en el ciclo de transmisión de la enfermedad de Chagas

Financing: Este trabajo fue financiado por el CONACYT

Estudio preliminar de la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* autóctono de Paraguay

Juliana Moura Mendes¹, Cinthia Casal², Cinthia Rojas², Andrea Alejandra Arrúa²

(1) Universidad Nacional de Asunción. Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas. San Lorenzo, Paraguay.

(2) Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. San Lorenzo, Paraguay.

Introducción Las aflatoxinas, son metabolitos secundarios de bajo peso molecular tóxicos para salud humana y animal producidos por *Aspergillus flavus*, y que contaminan a los granos y cereales, especialmente en malas condiciones de almacenamiento. Conocer y caracterizar la población fúngica presente en los granos nos sirve para estimar riesgo y diseñar medidas para mitigarla. Siendo así, el objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de aflatoxinas de aislados de *Aspergillus* provenientes de maíz en modelo in vitro. **Metodología** Los experimentos fueron realizados en el del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas de la Universidad Nacional de Asunción (CEMIT-UNA). Se utilizaron dos aislados de *A. flavus* (CCM-AS02 y CCM-AS29) de la colección de cultivos de Microorganismos de la Universidad Nacional de Asunción, CCM-UNA (FELACC, SI-70) que fueron aislados de maíz. Se reactivaron los aislados de *A. flavus* cultivándolo en agar Papa Dextrosa (PDA). Posteriormente, se prepararon suspensiones fúngicas de cada aislado correspondientes a $1-5 \times 10^7$ esporas.mL⁻¹, cuantificada en cámara de Neubauer. Se adquirieron de forma comercial granos de avatí-morotí, que fueron a continuación autoclavados a 121 °C, 1 atm, por 15 minutos. Para el ensayo de infección in vitro de los granos de maíz, se acondicionaron 10 g por repetición en frascos de vidrio recobiertos con una película delgada de polietileno. Se inocularon 1 mL de las suspensiones fúngicas más 4 mL de agua destilada estéril, y posteriormente, los frascos fueron incubados a $27 \pm 3^\circ\text{C}$ por 10 días. El tratamiento control fue realizado mediante adición de 5 mL de agua destilada estéril. Por último, se determinó la concentración de aflatoxinas con el kit inmunoensayo rápido de fluido lateral Afla – V®-VICAM®. Se hizo comparación de medias de las concentraciones de aflatoxinas con ANOVA two-way, con posterior prueba de múltiples comparaciones de Tukey con intervalo de confianza de 95% ($p < 0,05$) con el software estadístico GraphPad Prism® 8.1.2. **Resultados** Los aislados de *A. flavus* CCM-AS02 y CCM-AS29 fueron capaz de infectar y producir aflatoxinas en temperatura de $27 \pm 3^\circ\text{C}$, que son muy similares a la temperatura media de nuestro país. **Conclusión** Siendo así se puede concluir que los aislados de *A. flavus* provenientes de maíz son capaces de producir aflatoxinas en condiciones similares ambientales, por ello, es necesario crear conciencia del riesgo que representa la contaminación de los granos de maíz con aflatoxinas y la necesidad de tomar medidas preventivas de control.

Identification of non-coding RNA activated by iron and their possible role in iron homeostasis in *Enterococcus faecalis*

Sebastián Gómez¹, Jorge Torres¹, Víctor Aliaga¹, Mauricio Latorre^{1,2}

(1) Universidad de O'Higgins, Laboratorio de Bioingeniería, Instituto de Ciencias de la Ingeniería, Av. Libertador Bernardo O'Higgins 611, Rancagua, Chile

(2) Universidad de Chile, Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, El Líbano 5524, Santiago, Chile

Enterococcus faecalis is an opportunistic bacterium that has to overcome various obstacles to colonize the interior of the human body. One of these is iron deprivation, an essential micronutrient used as cofactor in different processes in bacteria. Adaptation to iron deficiency is based on the ability of *E. faecalis* to activate specific genes. To date, there are reports that *E. faecalis* has a complete set of non-coding RNAs induced by different stressors; nevertheless, the presence of ncRNAs in response to iron has not been reported yet in this bacterium. Therefore, the following work aims to identify ncRNAs responding to changes in iron availability in *E. faecalis*. Using a public database of 600 ncRNAs encoded in *E. faecalis* in combination with the bioinformatics tool intaRNA, we identified a total of 1804 possible gene targets controlled at least by one ncRNA. Next, these targets were classified by: the response to iron and gene encoding for iron homeostasis systems. Notably, we were able to identify a ncRNA possibly controlling the expression of *feoB* (iron uptake system), a conserved protein in bacteria directly related to iron homeostasis. In order to study the transcriptional response of the ncRNA and *feoB* to iron, we exposed *E. faecalis* to iron excess (0.5 mM FeCl₃) and deficit (0.5 mM dipyríidil) for 3 h, and then measured possible RNA abundance changes by qPCR. The ncRNA increased their abundance during the iron excess. In contrast, *feoB* transcript decreased its abundance. This result suggests that under a toxic iron scenario, the increment of the ncRNA produces a reduction in the levels of *feoB* mRNA, probably acting as a defensive response to avoid the iron toxicity reducing the uptake of the metal. Finally, these data open the research area to search for new regulatory elements controlling the iron homeostasis in *E. faecalis*.

Financing: Center for Mathematical Modeling, Grant/Award Number: AFB170001; FONDECYT N° 1190742; Center for Genome Regulation FONDAP 15090007; CUECH; Gobierno Regional Chile.

Evaluación de genes normalizadores para el estudio de expresión relativa de genes potenciales asociados a lipasas en *Candida palmioleophila*

Laura Cristina Farelo Traslaviña¹, Indira Paola Hernández Peñaranda¹, Wilfredo Valdivieso Quintero¹

(1) Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Naturales, Calle 70 N° 55-210, Bucaramanga, Santander, Colombia.

Introducción: La levadura *Candida palmioleophila* es un microorganismo ambiental, poco estudiado el cual posee un alto potencial biotecnológico para la degradación de grasas y aceites. Estudios utilizando secuenciación de nueva generación han permitido identificar múltiples genes con potencial codificante para lipasas. Debido a esto, se propone el estudio de la expresión relativa de estos genes, para lo cual se requiere previamente de la evaluación de genes que sirvan como normalizadores. Por lo anterior, el presente trabajo busca evaluar la estabilidad de la expresión de 6 genes candidatos a normalizadores en *C. palmioleophila*, como base para la estimación de cambios en la expresión génica de los potenciales genes de lipasa en la utilización de fuentes de carbono oleosas. Por otro lado, esta información contribuirá a la comunidad científica dado que puede ser utilizada en otros de análisis como el estudio de otras rutas metabólicas, factores de virulencia, etc. **Metodología:** A partir del genoma completo de la levadura *C. palmioleophila* se obtuvieron 6 secuencias para los genes candidatos a normalizadores ACTB, RPP, RIP, PMA, LSC Y ARP; estas secuencias fueron utilizadas en el software primer3 con el cual se diseñaron 4 parejas de oligonucleótidos para cada gen normalizador con las siguientes características: tamaño de amplificado de 150pb, temperatura de hibridación menor a 65°C, porcentaje de G/C mayor al 55%, longitud mayor a 20 bases nitrogenadas y evitar la formación de autodímeros o heterodímeros entre ellos. Posterior a esto se realizaron amplificaciones por PCR con ADN genómico (ADNg) y pruebas de amplificación por RT-qPCR con ADNc de *C. palmioleophila* cultivada bajo dos condiciones: medio control de crecimiento YPD, el cual tiene dextrosa como fuente de carbono y medio basal salino (MBS) + aceite de oliva como fuente de carbono. Los Cq obtenidos para cada gen en las amplificaciones por RT-qPCR fueron analizados bajo el criterio de gNorm, el cual evalúa la estabilidad de los genes según el valor "M" que debe estar entre 1 y 0,5 para el gen más estable. **Resultados:** Se observó la amplificación esperada de 150pb para los oligonucleótidos diseñados para cada gen candidato a normalizador. Se encontró el gen RIP como uno de los más estables (no varía su expresión) con un valor M de 0,5 al comparar su comportamiento en medio YPD y MBS suplementado. Cabe resaltar que dentro del rango de 1 a 0,5 se ubicaron otros tres genes candidatos a normalizadores: RPP, ACTB Y LSC. Esto nos permite tener indicios sobre la pertinencia del uso de este grupo de genes para análisis de expresión relativa de genes que asociados a lipasas en *C. palmioleophila*. Por otro lado, el contar con más de un gen normalizador adiciona robustez a los resultados de expresión relativa.

Financing: Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Minciencias, Colombia. Caracterización de lipasas del patógeno oportunista *Candida palmioleophila* y su influencia en la infectividad de macrófagos in vitro. Proyecto código: 129977757612. CT-592-2018, UDES, Universidad de Santander

Evaluación de metabolitos producidos por *Aspergillus flavus* mediante GC-MS en dos condiciones de cultivo diferentes.

Domitila Villalba Fariña¹, Cinthia Casal^{1,2}, Andrea Arrua^{1,2}, Juliana Moura Mendes¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción., Facultad de Ciencias Exactas y Naturales., San Lorenzo, Paraguay.

Introducción El *Aspergillus flavus* es un patógeno oportunista que ha sido aislado de animales, plantas y suelo, produce una variedad de metabolitos secundarios; entre los que se encuentra las aflatoxinas, que son micotoxinas con potencial efecto hepatotóxico, genotóxico y carcinógeno. Además, pueden producir una variedad de metabolitos como el ácido ciclopiazónico y el ácido kojico, que también son perjudiciales tanto para la salud humana como para el animal. Estos metabolitos secundarios pueden clasificarse en una gran variedad de compuestos lo que conlleva a la necesidad de una evaluación precisa de las estructuras químicas, lo cual hizo evidente el uso de métodos cromatográficos para la identificación, siendo la cromatografía gases acoplado a masas, uno de los más utilizado por selectividad y sensibilidad en la detección de estos metabolitos. Siendo así se propuso evaluar los metabolitos producidos por un aislado de *A. flavus* en dos diferentes condiciones de cultivo. **Metodología** Los experimentos fueron realizados en el del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas de la Universidad Nacional de Asunción (CEMIT-UNA). El aislados de *A. flavus* estudiado pertenecen a la Colección de Cultivos de Microorganismos de la Universidad Nacional de Asunción, CCM-UNA (FELACC, SI-70) y fueron aislados de maíz. Se reactivó el aislado de *A. flavus* CCM-AS41, cultivándolo en agar Papa Dextrosa-PDA. Para evaluar la producción de metabolitos, el aislado *A. flavus* CCM-AS41 fue sembrado en medio extracto de levadura-sucrosa (YES) en dos actividades agua (aw): 0,99 y 0,95, incubados a 30°C por 30 días. La extracción se procedió con el total de 10 placas compuestas por medio de cultivo y micelio. Se prepararon extractos metanólico y hexánico de cada condición de cultivo y se procedió con el análisis en el cromatógrafo de gases 436-GC marca Bruker acoplado a un detector MS/MS Evoq, siendo las condiciones cromatográficas las siguientes: Sistema de control MSWS, columna marca Restek Rtx-5 Crossbond 5% difenil / 95% dimetil polisiloxano 30 metros, 0.25 mmID, 0.25 um df, caudal 1 mL/min, energía de impacto de electrones -70eV, línea de transferencia 290°C, temperatura de la fuente 230°C, temperatura de la columna inicial 160°C por 3 minutos luego alcanzando 225°C a 10°C por minuto durante 3.5 minutos finalizando con 280°C a 3°C por minuto durante 30 minutos. Los espectros fueron analizados en el programa NIST MS Search 2.3 **Resultados** Se detectaron diferentes metabolitos producidos por *A. flavus* CCM-AS41 en las dos condiciones ensayadas (aw: 0,99 y 0,95). En el extracto hexánico, en la condición de aw 0,99 se visualizaron más picos y fue posible identificar más compuesto. En la condición de aw 0,95; está más restringida la disponibilidad de agua cuando comparado con aw 0,99; posiblemente produce metabolitos diferentes por la condición de estrés ambiental. **Conclusión** Siendo así se concluye que en las condiciones ensayadas el aislado *A. flavus* CCM-AS41 produjo más metabolitos en condiciones de mayor disponibilidad de agua 0,99. Sin embargo, es necesario seguir estudiando para identificar todos los metabolitos y elucidar la relación entre el tipo de metabolito y las condiciones ensayadas.

Expresión del gen de la enzima mirosinasa de *Brassica oleracea* var. *italica* en *Pichia pastoris* y *Saccharomyces cerevisiae*.

Cristian Erazo¹, Carolina Curiqueo¹, Andrea Mahn¹, Antonio Castillo¹

(1) Universidad de Santiago de Chile, Ingeniería Química, Ingeniería, Av Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Estación Central, Región Metropolitana, Santiago, Chile

La enzima mirosinasa es una glicoproteína presente en hortalizas de la familia Brassicaceae, tales como el brócoli, coles de Bruselas, rábano y repollo. Esta enzima cataliza la hidrólisis del enlace β -tioglucosídico de los glucosinolatos, generando isotiocianatos. En el brócoli, *Brassica oleracea* var *italica*, el glucosinolato glucorafanina es el que se encuentra en mayor proporción, el cual al ser hidrolizado da origen a sulforafano, molécula que posee propiedades anticancerígenas y antimicrobianas. Actualmente existe gran interés en sobreproducir la enzima mirosinasa y las levaduras son organismos apropiados para este propósito, ya que además de sobreproducir la proteína de interés, este producto génico puede adquirir las modificaciones postraduccionales necesarias para la correcta adquisición de su conformación tridimensional y así mantener la actividad biológica de la proteína nativa.

El objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones de expresión del gen de la enzima mirosinasa de brócoli en *Pichia pastoris* y *Saccharomyces cerevisiae*. Para ello, se se subclonó el cDNA de la mirosinasa en los vectores de expresión pPICZA y PMG1 y con los plásmidos recombinantes se transformó *P. pastoris* X-33 y *S. cerevisiae* MGY70, respectivamente. Ambos vectores de expresión poseen promotores inducibles (AOX1 y Gal1) y no es necesario crecer las levaduras recombinantes en medios selectivos, ya que el plásmido pPICZA se integra al genoma de *P. pastoris* X-33 y el vector pMG1 contiene un gen esencial para la viabilidad de la cepa hospedera *S. cerevisiae* MGY70. Por lo tanto, ambas levaduras recombinantes se pueden cultivar en medios nutritivos ricos en aminoácidos para así garantizar una sobreproducción de la enzima de brócoli.

Los resultados obtenidos revelaron la sobreproducción de una enzima funcional con actividad mirosinasa en *S. cerevisiae* y la sobreproducción de una proteína cuya migración electroforética es coincidente con el monómero de la mirosinasa, la cual actualmente se está caracterizando para determinar su actividad enzimática, estructura cuaternaria e importancia de las glicosilaciones en la estructura y función de la enzima. Los resultados de este trabajo podrían permitir diseñar un sistema de producción de esta enzima a pequeña y mediana escala.

Financing: Trabajo financiado por el Proyecto FONDECYT 1201418

Participación de las proteínas Qrp, YlbF, YmcA (con dominio com_YlbF) en la regulación de la formación del biofilm y hemólisis en *Staphylococcus aureus*

Zayda Lorena Corredor Rozo¹, Riacurte Alejandro Márquez Ortiz¹, Deisy Abril Riaño¹, Gloria Natasha Vanegas Gomez², Javier Antonio Escobar Pérez¹

(1) Universidad El Bosque, Laboratorio de Genética Molecular Bacteriana, Bogotá D.C., Colombia

(2) University of Technology Sydney, The itthree institute, NSW 2007, Sydney, Australia

Staphylococcus aureus es una de las mejores bacterias adaptadas a los humanos, con habilidades extraordinarias como la expresión de múltiples factores de virulencia y la formación de biofilm. *S. aureus* puede formar biofilm, por dos mecanismos principales ya sea por condiciones de acidez generando un agregado celular principalmente compuesto por proteínas de adhesión, o mediado por el operón icaABDC codificando para el polisacárido de adhesión intracelular (PIA/PNAG). En *Bacillus subtilis* se ha reportado que las proteínas YlbF y YmcA (que tienen un dominio denominado com_YlbF) inhiben la esporulación, competencia y formación de biofilm a través de la afectación de la actividad de la Ribonucleasa RNasa Y. El objetivo de este estudio fue determinar la participación de las proteínas Qrp, YlbF, YmcA (con dominio com_YlbF) en la regulación de la formación del biofilm y hemólisis por *Staphylococcus aureus*. Para esto, se evaluó el impacto de la delección de los genes *qrp*, *ylbF* y *ymcA* en la formación de biofilm con o sin condiciones de acidez o estrés osmótico en microplaca, la producción de PIA/PNAG por inmunodetección y capacidad hemolítica de glóbulos de cordero. Además, se realizó un análisis comparativo global transcripcional (RNAseq) y una evaluación en el cambio de activación de los promotores. La delección de los genes *qrp*, *ylbF* y *ymcA* en *S. aureus* produjo una disminución de la formación de biofilm inducido por condiciones de acidez; y una disminución en su capacidad hemolítica. La cepa triple mutante delecional mostró un leve descenso en la producción de PIA/PNAG. Los análisis globales transcripcionales mostraron una desregulación de varios genes asociados a patogénesis en la cepa mutante, resaltando la disminución en la expresión del gen *agrA* (sistema quorum sensing) y las hemolisinas delta, alfa y gamma; y los genes *sdrC*, *eap/map* (proteínas de adhesión). Los ensayos mostraron una disminución en la activación del promotor de la hemolisina gamma. Los resultados también indicaron una posible afectación de la actividad RNasa Y cuando los genes *qrp*, *ylbF* y *ymcA* fueron delecionados. En conclusión, se identificó que esta nueva familia de proteínas con dominio com_YlbF, que, aunque no son esenciales para la supervivencia de la bacteria, si pueden estar participando en la regulación de genes relacionados con la formación del biofilm y hemólisis en *S. aureus* a través de un cambio en la actividad de la RNasa Y.

Financing: Convocatoria Interna Universidad El Bosque y Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación of Colombia-MinCiencias (Grant number 1308-77758007)

Natural Products Investigation in Antarctic Streptomyces

Marcela Borba¹, Ana Paula Ferrero¹, Renata Lameira¹, Ignacio González², Olga Genilloud², Sueli Van Der Sand¹

(1) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Rua Sarmento Leite, 500, Porto Alegre, Brazil

(2) Fundación MEDINA Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, Avenida del Conocimiento, 34, Granada, Spain

New antibiotics with new antimicrobial spectrum are urgently necessary, considering the wide spread of bacteria and fungi resistant to multiple drugs in different environments. Natural products of the Actinobacteria phylum have a long history of great contribution to human health. *Streptomyces* is an important genus of this group, responsible for about 70% of antibiotics. For many years, classical screening was faced with a gap in the discovery of new compounds, but the sequencing of the genome of *Streptomyces coelicolor* A3(2) reinvigorated the search for new molecules from this group by demonstrating the high metabolic capacity present in cryptic genes. To activate these genes, it is necessary to change the biosynthesis routes through the use of different cultivation conditions and environmental stress. Harsh environments naturally select streptomycetes with distinct metabolic pathways and possible producers of new molecules. Thus, the objective of this work was to investigate and identify the antimicrobial compounds produced by *Streptomyces* isolates from Antarctic soil through miniaturized cultivation with different nutrients. The 40 isolates previously identified as *Streptomyces* were cultivated in the Duetz system in 10 different culture media. The active extract was obtained after extraction with acetone and tested in 96-well plates against Gram positive, Gram negative bacteria, filamentous fungus and yeast. Of the 800 extracts obtained, 320 had their antimicrobial activity detected, mainly against MRSA, *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. These were analyzed by LC-UV-LRMS and isolates with different compound production profile were cultivated in EPA-type flasks. Of these, 92 extracts were analyzed by LRMS and HRMS and the products compared with MS-Gold and MEDINA-HRMS databases. In addition to macrolides and antifungals detected in the databases, one isolate (LMA323St_43d) showed an active extract against *C. albicans*, *Candida glabrata* and MRSA and still did not obtain any identified compound, which could be a producer of an unknown compound. Miniaturized cultivation techniques make it possible to test growing conditions faster than traditional cultivation. Combining the new possibilities of screening natural products with the search for streptomycetes from highly selective environments, we have a new era of study possibilities and discoveries.

Financing: CAPES

Estructuración de una red bioquímica simplificada de *Klebsiella pneumoniae*

Verónica Sánchez Espinosa de los Monteros¹, Esteban Mota Mora¹, Edgar Jair Guerrero Salazar¹, José Israel Hernández Oropeza¹

(1) Universidad La Salle México, Facultad de Ingeniería

En 2019, la Organización Mundial de la Salud (OMS) incluyó a la resistencia a los antibióticos en su listado de las principales amenazas a la salud mundial. En este sentido, *Klebsiella pneumoniae* es uno de los microorganismos que recientemente ha mostrado mayor resistencia a diversos tipos de antibióticos por lo que actualmente está catalogado por la OMS como un patógeno de prioridad 1 o crítica. *K. pneumoniae* es un bacilo Gram negativo, encapsulado, no móvil, perteneciente al género de las enterobacterias, que causa infecciones del torrente sanguíneo y del tracto urinario, así como abscesos hepáticos y neumonías que a menudo resultan graves e incluso letales. Esta bacteria representa una amenaza para personas con sistema inmunitario debilitado, como lo es la población afectada por el virus SARS-CoV-2 causante de la COVID-19. Si bien la OMS ha hecho hincapié en la necesidad de un esfuerzo internacional para abordar la resistencia a los antibióticos, a la fecha las medidas principales para frenar este problema son el refuerzo de las medidas de higiene, así como la utilización adecuada de los antimicrobianos tanto en humanos como en animales. Por lo cual resulta evidente la necesidad de proponer nuevas estrategias para enfrentar esta problemática, como lo podría ser el aprovechamiento de la información bioquímica disponible para el establecimiento de modelos matemáticos que permitan el reconocimiento de enzimas clave para el microorganismo patógeno como una manera sostenible de identificar blancos terapéuticos. El propósito del presente trabajo fue estructurar una red bioquímica simplificada de *K. pneumoniae* para lo cual se siguió una estrategia metodológica conformada por tres etapas: selección de la información bioquímica del microorganismo asociada con el mecanismo de infección, elaboración de una base de datos y diseño del esquema simplificado del metabolismo de *K. pneumoniae*. Con base en la revisión de la literatura se elaboró una base de datos que incluye el número EC de la enzima que participa en la reacción, el nombre del gen que codifica para la enzima, la clave KEGG de la reacción, el nombre sistemático en español de los compuestos que intervienen en la reacción, la reacción química balanceada según el procedimiento de carbono mol y la reversibilidad de la reacción. La red bioquímica simplificada está integrada por 38 enzimas, 45 compuestos y 43 reacciones intracelulares de 6 rutas metabólicas: metabolismo de la fructosa y manosa, metabolismo de aminoazúcares y nucleótidos, ruta de las pentosas fosfato, glucólisis, metabolismo del piruvato y ciclo del citrato. La estructuración realizada servirá para establecer un modelo estequiométrico que permita calcular los flujos metabólicos de esta bacteria con la finalidad de reconocer las enzimas clave de *K. pneumoniae*. La importancia de este trabajo radica en que la estructuración de una red bioquímica consistente es un requisito indispensable para el establecimiento de un modelo estequiométrico confiable.

Dinámica de expresión del sRNA ArcZ y sus putativos genes blanco durante la formación de biopelículas del patógeno de salmones *Yersinia ruckeri*.

Paula Nuñez¹, Lillian G. Acuña^{1,2}, Iván L. Calderón¹

(1) Universidad Andres Bello, Laboratorio de RNAs Bacterianos, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile

(2) Universidad Andres Bello, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Viña del Mar, Chile

Yersinia ruckeri es el agente causal de la enfermedad entérica de la boca roja (ERM) que afecta principalmente a salmónidos, causando una alta tasa de mortalidad en peces no tratados. Este patógeno es capaz de formar biopelículas, estructuras que son fuente de infecciones recurrentes y nuevos brotes de ERM. Al respecto, no existe información sobre los mecanismos moleculares de regulación del proceso de formación de biopelículas en este patógeno. A nivel de la regulación de la expresión génica, es sabido que la transición desde un estilo de vida mótil hacia el estado de biopelícula está mediada por RNAs pequeños no codificantes (sRNAs). Los sRNAs ejercen una regulación a nivel post transcripcional, a través del apareamiento de bases con mRNA blancos, resultando en una regulación positiva o negativa de su expresión. En enterobacterias como *E. coli* se ha visto que el sRNA ArcZ está involucrado en la promoción de un estilo de vida sésil, inhibiendo la motilidad y favoreciendo la acumulación de c-di-GMP, un segundo mensajero que activa la formación de biopelículas. Nuestro grupo de investigación secuenció el genoma de un aislado de *Y. ruckeri*, identificando una secuencia homóloga para el sRNA ArcZ. Dado que las biopelículas representan una gran problemática para la salmonicultura, nos propusimos evaluar la participación de ArcZ en la regulación de la formación de biopelículas en *Y. ruckeri*. Para caracterizar el perfil de expresión de este sRNA en *Y. ruckeri*, junto con el de sus posibles mRNAs blancos, se realizaron análisis mediante RT-qPCR a partir de biopelículas crecidas en placas de poliestireno. Las muestras se recolectaron a distintas temporalidades de la formación de biopelículas (0, 6, 12, 24 y 48 h), observándose que la expresión de ArcZ aumenta hasta 70 veces a las 24 h, disminuyendo posteriormente. Para evaluar posibles mRNAs blancos de ArcZ, se realizaron análisis predictivos in silico utilizando las herramientas bioinformáticas CopraRNA e IntaRNA, a partir de los cuales se obtuvieron como posibles blancos diversos mRNAs: *hmsT*, involucrado en la síntesis de c-di-GMP; *flhDC*, regulador maestro de síntesis flagelar; *flgI* y *flgH*, proteínas flagelares; *cheA* y *cheY* del sistema regulador de quimiotaxis. Los patrones de expresión de estos genes se analizaron mediante RT-qPCR en las biopelículas de *Y. ruckeri* y se obtuvo que *hmsT* se induce significativamente a las 24 h de la formación de biopelículas. Por el contrario, se encontró que la expresión de *flhDC*, junto con *flgI* y *flgH*, disminuyen su expresión a medida que crece la biopelícula, alcanzando su punto mínimo de expresión a las 24 h. Del mismo modo, se examinaron los genes reguladores de quimiotaxis *cheA* y *cheY*, cuya expresión también disminuyó conforme aumentaba la expresión de ArcZ. La correlación inversa de la expresión entre ArcZ y los genes *flhDC*, *flgI*, *flgH*, *cheA* y *cheY* sugieren una regulación negativa por parte del sRNA. Por su parte, los resultados de correlación directa de la expresión, sugieren que ArcZ podría estar regulando positivamente a *hmsT*, promoviendo así la formación de la biopelícula.

Financing: FONDECYT iniciación #11201070; CONICYT/FONDAP Grant #15110027

Diversidad genética de *Escherichia coli* aislada de muestras de agua del lago Guamuez-Nariño, Colombia

RAUL MAURICIO INSUASTY¹, Deisy Lorena Guerrero Ceballos¹, Arsenio Hidalgo Troya¹, Juan Camilo Paz García¹, Mario Andrés Pantoja España¹, Jenny Dimelza Gómez Arrieta¹, Miller Orlando Cerón¹, Eduardo Iburguen Mondragón¹, María Alejandra Mármol Martínez¹, Edith Mariela Burbano Rosero¹, Eddy Patricia López Molano¹

(1) Universidad de Nariño, Departamento de Biología, Facultad de ciencias exactas y Naturales, Torobajo - Calle 18 Carrera 50, Pasto, Colombia

Raúl Mauricio Insuasty¹, Deisy Lorena Guerrero Ceballos^{1,3}, Arsenio Hidalgo Troya², Juan Camilo Paz García¹, Mario Andrés Pantoja España³, Jenny Dimelza Gómez Arrieta¹, Miller Orlando Cerón³, Eduardo Iburgüen-Mondragón³, Eddy Patricia López Molano³, María Alejandra Mármol³, Edith Mariela Burbano-Rosero^{1,3}. 1-Microbial Biotechnology Research Group2-Public Health Research Group3- Research Group in Mathematical Biology and Applied Mathematics (GIBIMMA)University of Nariño, Colombia Lake Guamuez is a wetland of national importance since it fulfills an important ecological, economic, and social role in the region; However, there is great anthropogenic pressure due to different activities such as: the dumping of sewage, the cultivation of rainbow trout in floating cages and the waste of fuels used for river transport, among others. This situation has deteriorated the physicochemical and microbiological characteristics and has significantly reduced the quality of this lake system. As a consequence of the foregoing, the inhabitants surrounding this ecosystem are mainly affected by the presence of enterobacteria such as *Escherichia coli*, a normal inhabitant of the intestinal microbiota of humans and animals, but which can present different pathotypes such as enteropathogenic *E.coli* (ECEP) and enteroinvasive *E.coli* (ECEI), among others, which are differentiated by resistance characteristics, pathogenicity islands or virulence genes that can generate infections that are difficult to treat. However, the studies carried out so far on the contamination by this pathogenic microorganism in the Lake do not have the necessary scope to determine the current situation of water quality and the risk to population health. In this context, the objective of this work is to determine the genetic variability of *E. coli* isolated from water samples from Lake Guamuez, for this will be carried out the isolation of *E.coli*, extraction of chromosomal DNA from the isolates, determination of the profile genetic using the BOX-PCR molecular marker and amplification of six virulence genes. Con base en los resultados obtenidos hasta el momento y los respectivos análisis estadísticos, se verificaron diferencias significativas entre los puntos de muestreo, destacando también la variabilidad genómica entre los aislamientos. La información obtenida puede ser enriquecida y complementada con otros estudios a realizar en el futuro para diseñar programas de epidemiología a favor de la salud de los habitantes de este ecosistema, y de esta manera se pueden generar programas de vigilancia epidemiológica.

Cuantificación de trehalosa en *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 y *Acidithiobacillus ferrivorans* CF27 mediante un método enzimático en medio 9K modificado, medio con sulfuro de cobre (0.5%) y medio con sulfuro de zinc (0.5%)

Maria Castañeda Fernandez¹, Pablo Ramirez Roca¹

(1) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Ciencias Biológicas, Av. Carlos Germán Amezaga 375 - Cercado de Lima, Lima, Lima

La trehalosa es un carbohidrato conocido por su función de protección tanto en estrés osmótico como en térmico y como fuente de almacenamiento de carbono en procariotes. Se han encontrado 4 vías de síntesis en *A. ferrivorans* y 2 en *A. ferrooxidans*. Se conoce que *A. ferrooxidans* ATCC 23270 posee la vía de síntesis de trehalosa TreY/TreZ, mientras que *A. ferrivorans* CF27 presenta las vías TS, TreY/TreZ y GlgX. Sin embargo, no ha habido reportes que establezcan exactamente la función de este carbohidrato ni cómo varía la concentración de este al usar un medio de cultivo con sulfuro de cobre, sulfuro de zinc o con sulfato de hierro (II), por lo que se evaluó la concentración de trehalosa en ambas cepas mediante un método enzimático a fin de analizar si varía la concentración intracelular de trehalosa cuando se varía la fuente de energía. Se realizaron cinéticas de crecimiento de ambas cepas a fin de determinar la fase estacionaria temprana de cada una en 2 medios distintos: medio 9K modificado con 33.3 g/L de sulfato de hierro (II) y medio de sales base mínimo suplementado con CuS o ZnS al 0.5% (Ramírez et al. 2004) ambos a pH 2, temperatura de 28°C y 180 RPM. Se encontró que el inicio de la fase estacionaria de *A. ferrooxidans* en medio 9K fue de 64 horas, con zinc 7 días y con cobre 14 días; mientras que para *A. ferrivorans* fue de 72 horas, 7 días y 14 días, respectivamente. Se analizó la concentración de trehalosa en esta fase, para lo cual se concentró y sonicó las células durante 30 ciclos de 15 segundos y 30 segundos de descanso y se cuantificó el sobrenadante usando un método enzimático modificado, el cual consiste en dos reacciones: la primera de conversión de trehalosa a glucosa y la segunda de cuantificación de glucosa. Se estandarizó el valor mínimo cuantificable y el tiempo óptimo de lectura de la segunda reacción a una absorbancia de 420 nm (Reina-Bueno et al., 2012). Adicionalmente se cuantificó el sobrenadante usando el método de Bradford (1976). Los resultados se expresaron en $\mu\text{mol}/\text{mg}$ proteína. Encontrándose una mayor producción de trehalosa por parte de ambas cepas de *Acidithiobacillus* en el medio con hierro, siendo mayor en *A. ferrivorans* con 0.34 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ proteína, mientras que en *A. ferrooxidans* fue de 0.31 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ proteína; mientras que en sulfuro de cobre fue de 0.02 y 0.03 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ proteína, respectivamente y en zinc no se detectó presencia de trehalosa. Siendo este el primer reporte de cuantificación en tres medios diferentes en el que se demuestra cuánto varía la concentración de trehalosa entre ambas cepas y cuando se varía la fuente de carbono, siendo en medio 9K mayor la producción de trehalosa, lo cuál podría deberse a la alta concentración de sulfato de hierro en el medio, mientras que en el caso del sulfuro de cobre baja drásticamente la producción de esta y en sulfuro de zinc no fue detectable por el método enzimático.

Financing: Este trabajo fue financiado por el CONCYTEC-FONDECYT en el marco de la convocatoria E041-01 (Contrato N° 041-2018-FONDECYT)

Estudio genómico y fisiológico de cepas emergentes de Salmonella en la industria avícola

Gabriel I. Krüger¹, Coral Pardo-Esté¹, Nicolás A. Galleguillos¹, Phillippi Zepeda¹, Agustin Cofree¹, Claudia P. Saavedra¹

(1) Universidad Andres Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, República 330, Santiago, Chile

Bacterias enteropatógenas son una gran preocupación a nivel mundial, especialmente en la industria de alimentos consumidos por humanos, en este contexto aquellas pertenecientes al género Salmonella han sido ampliamente estudiadas; se ha demostrado que éstas han logrado desarrollar estrategias que le permiten adaptarse, sobrevivir y evolucionar frente al estrés ocasionado por las estrategias de desinfección utilizadas en plantas procesadoras de alimentos, ocasionando pérdidas económicas y graves problemas de salud a nivel mundial. El género Salmonella comprende más de 2500 serotipos distintos, cada uno con características antigénicas particulares y adaptaciones específicas, manifestadas en cambios a nivel del genoma, presencia de pseudogenes, plásmidos y otros elementos móviles. En este contexto, tradicionalmente serotipos como Typhimurium y Gallinarum han sido asociados con brotes de alimentos contaminados, sin embargo, recientemente cepas poco comunes o emergentes son una preocupación de salud pública relevante en varios países, incluyendo Chile. Para controlar la proliferación de bacterias en las líneas de producción de alimentos se utilizan compuestos microbicidas, como detergentes, como parte de los protocolos de limpieza seguidos en la industria, sin embargo, nuevas cepas emergentes han aumentado su abundancia, desplazando a los serotipos tradicionalmente asociados a la contaminación de alimentos; adicionalmente estudios genómicos han indicado que son capaces de adquirir elementos móviles y accesorios que le permiten persistir en la línea de producción hasta el producto final, adicionalmente utilizan otras estrategias de resistencia, como la producción de biofilm como una barrera física que protege a la comunidad bacteriana del efecto de los compuestos microbicidas. Por lo que el monitoreo, caracterización y descripción a nivel genético de estas cepas es crítico para establecer medidas de mitigación y control. En este estudio proponemos caracterizar genómica y fisiológicamente 50 cepas de Salmonella aisladas de una granja de Pollos de la Región Metropolitana de Chile, realizando análisis de genética comparativa con la ayuda de herramientas bioinformáticas, además de ensayos para determinar la resistencia a microbicidas y producción de biofilm como estrategias de resistencia. Encontramos que estas cepas se caracterizan por una mayor resistencia a detergentes y además presentan adición de elementos móviles y accesorios en su genoma que le permitirían esta adaptación y le confieren ventajas sobre otras cepas bacterianas y promoverían su persistencia. Esta información puede ser utilizada para realizar modelos predictivos utilizando herramientas de algoritmo de aprendizaje automático predictivo, que pueden ser un aporte para entender y mitigar los daños ocurridos por Salmonella en la industria alimentaria.

Financing: FONDECYT # 1210633

A new periplasmic soluble-binding protein (AccT) involved in the carbon catabolite repression of the anaerobic catabolism of aromatic compounds in *Azoarcus* sp. CIB.

Unai Fernández-Arévalo¹, J. Andrés Valderrama¹, Helena Gómez-Álvarez¹, Gonzalo Durante-Rodríguez¹, Eduardo Díaz¹

(1) Centro de Investigaciones Biológicas - Margarita Salas, Microbiología Ambiental, C/ Ramiro de Maeztu, 9, Madrid, Spain

Introduction:Carbon catabolite repression (CCR) is widespread in bacteria and allows a competitive advantage by establishing priorities in carbon utilization. This enables bacteria to optimize their growth rates in natural environments that provide complex mixtures of nutrients. The regulatory systems that trigger CCR work changing the expression patterns of genes involved in the uptake and/or metabolism of less preferred carbon sources. Such carbon sources often include aromatic compounds, which are widely distributed in nature and are major environmental pollutants. Anaerobic biodegradation of aromatics usually involves the well-known benzoyl-CoA central pathway (bzd genes). The beta-Proteobacterium *Azoarcus* sp. CIB has been used as model system to study the effector-specific regulation of the bzd genes. We expand previous studies towards the characterization of the first multicomponent regulatory system that controls carbon catabolite repression of the bzd genes in bacteria.**Objectives:**To unravel the role of AccT protein into the multicomponent regulatory system that mediates bzd carbon catabolite repression by some organic acids, e.g., succinate, in *Azoarcus* sp. CIB. **Methods:**Gene expression studies were performed by qRT-PCR and β -galactosidase assays of PN::lacZ fusions, in the wild-type CIB strain and in *accS*, *accR* and *accT* null mutants, as well as in recombinant *E. coli* cells expressing reporter fusions. Biochemical assays were carried out to characterize the AccT protein, including protein-ligand interaction techniques, such us: differential scanning fluorimetry, isothermal titration calorimetry and circular dichroism. **Results:** CCR of the anaerobic degradation of benzoate is mediated by the *acc* gene cluster in *Azoarcus* sp. CIB. The AccR response regulator that represses the expression of the bzd genes in the presence of succinate is activated by a multidomain sensor histidine kinase (AccS) whose cytoplasmic autokinase domain responds to the redox state of the host cell. A periplasmic solute-binding protein (AccT) recognizes some dicarboxylic acids and may control autophosphorylation of the membrane-bound AccS. The *acc* cluster encodes a new regulatory circuit that is conserved in several β -proteobacteria where it may control their global metabolic state. **Conclusion:**The *accSRT* cluster is likely to encode a new three-component regulatory system that senses and responds to changes in extracellular (e.g., organic acids) and intracellular (e.g., redox state) signals in different β -Proteobacteria.

Financing: Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas – CSIC, Madrid, España. Ref. Proyecto: BIO2016-79736-R

Análisis computacional de la interacción de las proteínas EhCFIm25 y EhPAP de Entamoeba histolytica

Alondra Cisneros-Sarabia¹, César Augusto Sandino Reyes-López², Esther Ramírez-Moreno¹, Juan David Bermudes-Contreras¹, Laurence A. Marchat¹

(1) Instituto Politécnico Nacional, Laboratorio 2 de Biomedicina Molecular, Escuela de Medicina y Homeopatía, Guillermo Massieu Helguera 239, Fracc. La Escalera, Ticomán, Del. Gustavo A. Madero, Ciudad de México, México

(2) Instituto Politécnico Nacional, Laboratorio de Bioquímica Estructural, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Guillermo Massieu Helguera 239, Fracc. La Escalera, Ticomán, Del. Gustavo A. Madero, Ciudad de México, México

La subunidad de 25 kDa del Factor de corte Im (CFIm25) es una proteína esencial en el proceso de poliadenilación del pre-ARNm, ya que, mediante su interacción con otras proteínas, participa en la selección del sitio de corte/ poliadenilación, el reclutamiento de los factores de poliadenilación y la realización de las reacciones de corte y poliadenilación. En el parásito protozoario Entamoeba histolytica, se ha descrito la interacción de EhCFIm25 con la poli A polimerasa (EhPAP) in vitro, sin embargo, se desconoce las interacciones moleculares que se establecen entre ambas proteínas. Por lo tanto, este trabajo tuvo como finalidad identificar a través de métodos computacionales cuales son los aminoácidos que participan en la interacción entre ambas proteínas. Para eso, se utilizaron los servidores en línea I-TASSER, SWISSMODEL, ModFOLD y RAPTOR X para obtener los modelos tridimensionales de las proteínas EhCFIm25 y EhPAP, los cuales fueron evaluados mediante la construcción del gráfico de Ramachandran utilizando el servidor PROCHECK para seleccionar los mejores modelos. Posteriormente, se realizó la minimización de energía de estos modelos mediante una simulación de dinámica molecular (SDM) de 50 ns en el servidor GROMACS. Finalmente, el acoplamiento molecular ciego entre el mejor modelo de ambas proteínas se llevó a cabo en el servidor CLUSPRO. El mejor modelo 3D de EhCFIm25 se obtuvo del servidor RAPTOR X, mientras que para la proteína EhPAP se eligió el modelo del servidor ModFOLD refinado con el programa REFOLD. Por otro lado, el análisis del RMSD (Root-mean-square deviation) obtenido de la SDM indicó que ambos modelos son estables a los 50 ns. Los resultados del acoplamiento molecular ciego predicen que ambas proteínas tienen una afinidad de unión de $-19.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ e interaccionan a través de nueve interacciones (dos puentes salinos y siete puentes de hidrógeno). De manera interesante, las interacciones identificadas no interfieren con la unión de EhCFIm25 al ARN, ya que involucran a otros residuos.

Financing: Este proyecto recibió financiamiento de CONACYT-México (285467).

Detección molecular de virus respiratorios en pacientes pediátricos con sospecha de COVID-19 en el Hospital General Pediátrico “Niños de Acosta Ñu” de Paraguay.

Fernando Arévalos¹, Lady Franco¹, Claudia Mareco¹

(1) Hospital General Pediátrico “Niños de Acosta Ñu”, Laboratorio de Biología Molecular, Arnaldo Bacigalupo, San Lorenzo, Paraguay

Introducción El virus SARS-CoV-2, es el coronavirus causante del COVID-19, una enfermedad respiratoria aguda; responsable de la actual pandemia. En Paraguay, el primer caso confirmado fue reportado el 07 de marzo del 2020. Las manifestaciones clínicas de dicha enfermedad en su mayoría son comunes a otras infecciones respiratorias causadas por otros virus. La transmisión de este nuevo virus se suma a la circulación de otros virus respiratorios, lo que dificulta realizar un diagnóstico diferencial. Actualmente, los métodos moleculares se constituyen como herramienta muy útil para la identificación diferencial de virus causantes de infecciones respiratorias en pacientes pediátricos. Objetivo: Determinar mediante técnicas moleculares la frecuencia de virus respiratorios en pacientes pediátricos con sospecha de COVID-19. Materiales y Métodos Estudio observacional, descriptivo de corte transversal. La población estudiada incluyó un total de 92 pacientes entre 0-18 años de edad con sospecha de COVID-19, que acudieron al Hospital General Pediátrico Niños de Acosta Ñu, en los meses de enero y marzo del 2021. La extracción del material genético se realizó a partir de muestras de hisopado nasofaríngeo. La detección de los virus respiratorios se realizó mediante RT-PCR múltiple en tiempo real mediante un kit comercial que detecta 16 tipos de virus. El virus SARS-CoV-2 se detectó a partir de la misma muestra utilizando una RT-PCR en tiempo real mediante un kit comercial que detecta la presencia de los genes (E, N y RdRP). Resultados Fueron estudiadas 92 muestras respiratorias de las cuales el 5,4% (n:5) fueron positivas para SARS-CoV-2, se detectaron 2 coinfecciones entre este virus y Rhinovirus/Enterovirus y otro con el Coronavirus C229E. En el 50% (n:46) de las muestras se detectaron otros virus respiratorios: Rhinovirus/Enterovirus, Coronavirus CNL63/HKU1, Coronavirus C229E, VSR-A, Bocavirus y Adenovirus; siendo Rhinovirus/Enterovirus el más predominante en un 58% (n:28) de las muestras. Además, se detectaron 5 casos de coinfecciones entre dos virus respiratorios distintos al SARS-CoV-2, en donde el 100% (n:5) de los casos estuvo presente el Rhinovirus/Enterovirus. Conclusión Los hallazgos de este estudio dan a conocer la importancia de realizar diagnóstico molecular diferencial para virus respiratorios en niños pediátricos; ya que se observó alta frecuencia de circulación de otros virus respiratorios diferentes al SARS-CoV-2, permitiendo determinar la etiología de la infección. Además, se pudo identificar casos de coinfecciones que son sumamente importantes en los cuadros clínicos de dichos pacientes.

Metaanálisis e identificación in silico de la vía de respuesta a estrés de envoltura del patógeno de salmónidos *Yersinia ruckeri*.

Diego Pedraza¹, Iván L. Calderón¹, Lillian G. Acuña^{1,2}

(1) Universidad Andres Bello, Laboratorio de RNAs Bacterianos, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad Ciencias de la Vida, Av. República 330, Santiago, Chile

(2) Universidad Andres Bello, Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Viña del Mar, Chile

Yersinia ruckeri es un patógeno de salmónidos, causante de la enfermedad de la boca roja o yersiniosis. Es una enterobacteria gram negativo capaz de infectar peces tanto en agua dulce como salada. Debido a ello, se destaca su capacidad de adaptarse a diversos ambientes y tipos de estrés, incluyendo también la exposición a antibióticos en las salmoneras. Considerando esto, nos preguntamos cómo *Y. ruckeri* logra mantener la integridad de su envoltura bacteriana en condiciones de estrés osmótico y/o antibióticos. Una estrategia molecular utilizada por bacterias para sobrevivir a diversas situaciones de estrés es la activación de sistemas de respuesta a estrés de envoltura (ESR), como los sistemas de dos componentes CpxAR y el factor Sigma E (RpoE) asociado a una RNA polimerasa. Estos sistemas son capaces de modular la expresión a través de la síntesis de RNAs pequeños no codificantes (sRNAs), los cuales a través del apareamiento con mRNAs blancos, promueven o reprimen la traducción de éstos, con la ayuda de la chaperona Hfq que estabiliza la unión mRNA-sRNA. Nuestro grupo recientemente secuenció el genoma de la cepa CD2 de *Y. ruckeri*, un aislado obtenido de una salmonera en la X región de Chile. El objetivo del presente estudio fue identificar in silico en *Y. ruckeri* los sistemas de respuesta a estrés por envoltura CpxAR, RpoE, junto a los complejos Hfq-sRNAs, y caracterizarlos mediante metaanálisis en su rol frente a estrés osmótico y exposición a antibióticos. En primer lugar, se realizó una búsqueda BLAST de los genes de los reguladores CpxAR, RpoE, así como de la proteína Hfq y sRNAs dependientes de dicha chaperona, descritos por bibliografía que estuviesen relacionados con las condiciones de estrés osmótico y antibióticos. El análisis evidenció la presencia de los genes *cpxA*, *cpxR*, *cpxP*, *cpxQ* (sRNA), *rpoE*, *rseA* (factor asociado a la respuesta RpoE), *rseB* (factor asociado a la respuesta RpoE), *hfq* y *micA* (sRNA), con una identidad superior al 80% en comparación al genoma de *Y. pestis*. La organización de sus operones está conservada en especies como *Escherichia coli*, *Y. pestis* y *Salmonella Typhimurium*. Posteriormente, y a partir de las secuencias homólogas de sRNAs encontrados en *Y. ruckeri* CD2, se realizó una búsqueda de mRNAs blancos putativos para dichos sRNAs mediante análisis CopraRNA. De estos posibles blancos, se seleccionaron aquellos relacionados al estrés por envoltura y se realizó a un nuevo análisis de interacción RNA-RNA mediante IntaRNA, para predecir el tipo de regulación ejercida por los sRNAs. En base a estos resultados, el sRNA CpxQ regularía positivamente la expresión de *mdtH*, codificante de una bomba de expulsión, mientras que negativamente a *skp*, codificante de una chaperona de plegamiento proteico. Por su parte, el sRNA MicA regularía negativamente a *phoP* (del sistema regulador PhoPQ) y *rseA*, contribuyendo así la activación de la vía RpoE. Estos resultados indican que *Y. ruckeri* CD2, contiene en su genoma suficientes componentes moleculares para conformar un sistema de respuesta a estrés de envoltura, mediante los sistemas CpxAR, RpoE, y los complejos Hfq-sRNAs.

Financing: FONDECYT iniciación #11201070; CONICYT/FONDAP Grant #15110027

Formación de biofilm en cepas *Escherichia coli* productor de Toxina Shiga serogrupo O91

María Victoria Vélez¹, Rocio Colello¹, Analía Inés Etcheverría¹, Roberto Vidal², Nora Lía Padola¹

(1) UNCPBA-CIVETAN-CIC-CONICET, Laboratorio de Inmunoquímica y biotecnología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Arroyo Seco S/N, Tandil, Argentina

(2) Universidad de Chile, Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Sta Rosa 1234, Santiago, Chile

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es considerado un patógeno emergente transmitido por alimentos asociado a colitis hemorrágica (CH) y Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). STEC ha sido reconocida como responsable de un alto número de casos de ETA a nivel mundial, siendo Argentina el país con mayor incidencia. Su habilidad para colonizar al huésped es esencial para la patogénesis. Existe un grupo de STEC carente del locus LEE (LEE-negativas) que no poseen los genes necesarios para producir la característica lesión A/E, pero pueden poseer otros factores de virulencia adicionales, como aquellos presentes en el Locus de Adherencia y Autoagregación (LAA) que porta genes que participan en la adhesión y autoagregación, entre ellos *hes*. Los biofilms son comunidades complejas de microorganismos que crecen embebidos en una matriz orgánica polimérica autoproducida y adherida a una superficie viva o inerte otorgándole a los microorganismos que lo conforma mayor resistencia ante procedimientos de desinfección y limpieza y facilitando la propagación de dichos patógenos. En los últimos años las cepas pertenecientes al serogrupo O91 han sido asociadas a enfermedad severa en el humano, sin embargo no se encuentran dentro de los protocolos de detección en Argentina. Se reconoce que la variabilidad de perfiles de virulencia de STEC provoca la emergencia de cepas con factores genéticos aún desconocidos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la formación de biofilms de cepas STEC O91 LAA-positivas. Se seleccionaron 16 cepas O91 LAA-positivas autóctonas aisladas de bovinos de tambo, bovinos de pastoreo y alimentos de origen avícola y dos cepas mutantes, una cepa O91 con la delección de LAA (O91 Δ LAA), y una cepa O91 con delección de *hes* (O91 Δ *hes*). Se realizó la formación de biofilm en placas de 96 wells en tres eventos independientes y por triplicado. La capacidad de formar biofilms en cada cepa independiente se estimó mediante tinción con Cristal violeta (0,1%) y lectura de densidad óptica (DO600). De acuerdo a las DO obtenidas, se clasificó a las cepas según su capacidad de formar biofilms en 4 categorías: no formadoras (NFB), débiles formadoras (DFB), moderadas formadoras (MFB), y fuertes formadoras de biofilms (FFB). Todas las cepas estudiadas (incluyendo las cepas mutantes) fueron clasificadas como FFB, aunque se observaron diferencias entre las DO de las cepas mutantes y las cepas autóctonas que no fueron significativas, a excepción de una de las cepas autóctonas, aislada de bovinos que presentó una diferencia significativa ($p > 0.014$) con respecto a las cepas mutantes. Estos resultados permitirían resaltar la función de adherencia de LAA, y confirmar que las cepas O91 tienen una gran capacidad de formar biofilms. Consideramos importante tener en cuenta otros serogrupos no-O157 que deben ser incluidos dentro del diagnóstico debido a que han sido asociados a CH y SUH. Comprender los mecanismos de patogenicidad de STEC y especialmente en la prevención de la formación de este tipo de biofilms es importante para disminuir el impacto de estos patógenos en la salud pública.

Papel de un efector downstream de la ruta de transducción de señales mediada por Pga1, en la morfología y la actividad de enzimas ligninolíticas en *Penicillium rubens* Wis 54-1255

Débora Hernández P¹, Francisco Fierro², Ramón Ovidio García-Rico¹

(1) Universidad de Pamplona., Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas, Km 1 vía Bucaramanga, Pamplona, Colombia

(2) Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, Ciudad de México, Distrito Federal, México., Departamento de Biotecnología, Ciencias Biológicas y de la Salud, Avenida San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, 09340 Iztapalapa, CDMX, Ciudad de México, México

Penicillium rubens es un hongo filamentoso reconocido como productor de antibióticos betalactámicos, entre otras moléculas con actividad biológica de interés industrial. Por su parte, las proteínas G heterotriméricas son importantes intermediarios moleculares de la señalización celular, investigadas ampliamente en hongos filamentosos por sus funciones reguladoras en la morfogénesis y en la producción de metabolitos secundarios y exoenzimas de interés. Un estudio proteómico previo en *P. rubens* Wis 54-1255, permitió identificar algunas proteínas como potenciales e importantes efectores downstream en la ruta de señalización mediada por la subunidad α_i , Pga1, en este hongo. Entre estas, destaca la proteína Pc22g05690 (en adelante ProPH) que se caracteriza por poseer dominios de homología de Pleckstrin, y cuya expresión estaría regulada positivamente por Pga1 de forma independiente de cAMP, y negativamente por altas concentraciones de cAMP. Este es el primer reporte de un análisis funcional de esta proteína. Se realizó un estudio comparativo, basado en la atenuación de la expresión del efector ProPH. Para ello, se clonó un fragmento de la CDS del gen en el vector pJL43-RNAi, obteniendo el plásmido pPcPH-RNAi. El constructo fue usado para transformar protoplastos de *P. rubens* Wis 54-1255. Los transformantes fueron seleccionados por su resistencia a fleomicina, su estabilidad mitótica y por los resultados de las pruebas de verificación a nivel genético (PCR). Una transformación con el vector pJL43-RNAi, se usó para generar transformantes control. Se seleccionaron 3 cepas transformantes (PH1, PH2, PH3) que fueron comparadas con la cepa control y la cepa WT (sin transformar). Se determinaron y compararon las tasas de extensión apical, la cinética de germinación conidial, la producción conidial; además de la actividad xilanasas, celulasa y feruloil esterasa (FAE). Los ensayos mostraron que la atenuación de la expresión de ProPH tuvo un efecto estimulador de la germinación. Después de 8 horas de cultivo, los transformantes presentaron un 53,7% de conidios germinados, mientras que el grupo control mostró un 20,5 %. De la misma forma, esta atenuación generó un fenotipo hipoconidial, en el que se registró una drástica reducción de la esporulación asexual. De otra parte, la atenuación de ProPH produjo un leve incremento en la tasa de extensión apical en medio sólido. En los ensayos de actividad enzimática, se pudo establecer que no hubo efectos significativos de dicha atenuación sobre las actividades celulasa y FAE. Sin embargo, se observó que los transformantes atenuados en ProPH mostraron una actividad xilanolítica (IE) superior en un 25% respecto a la observada para la cepa control. Conforme lo anterior, se propone que el efector downstream ProPH, de la ruta de transducción de señales mediada por la subunidad α_i Pga1, es necesario para un óptimo crecimiento vegetativo, desempeña un papel estimulador del proceso conidiogénico, e interesantemente, hace parte de los mecanismos que controlan la germinación. Por último, ProPH actúa como regulador negativo de la actividad xilanasas en *P. rubens* Wis 54-1255.

Financing: Grupo de investigación GIMBIO (Universidad de Pamplona) Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación (Colciencias) Convocatoria 753Conacyt México

Análisis de enzimas asociadas a fosforilación de tirosinas en *Burkholderia cenocepacia*

ANGEL ANDRADE¹, Rebeca Sánchez-Rodríguez¹, M. Fernanda Flores¹, Brenda L. Wilson¹, Miguel A. Becerril¹, Gloria M. González¹, Miguel Valvano²

(1) Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Av Francisco I Madero s/n, Monterrey, Mexico

(2) Queen's University Belfast, Wellcome-Wolfson Institute for Experimental Medicine, 97 Lisburn Rd, Belfast, United Kingdom

La fosforilación de tirosinas es una modificación post-traducciona (MPT) dinámica y reversible asociada con diferentes funciones celulares eucariontes. Aunque poco caracterizada en procariontes, reportes recientes indican que esta MPT representa también un importante mecanismo regulatorio de la fisiología bacteriana. Empleando como modelo al patógeno oportunista *Burkholderia cenocepacia*, hemos realizado una caracterización bioquímica y genética de las enzimas asociadas a dicha MPT. Los resultados obtenidos indican que la eliminación de genes codificantes de enzimas de la familia Bacterial Tyrosine Kinase (BY-Kinase) y Low Molecular Weight Protein Tyrosine Phosphatase (LMW-PTP) impacta en la formación de biopelícula, la patogenicidad y el crecimiento en condiciones de estrés nutricional y oxidativo. Adicionalmente, demostramos que las tres enzimas LMW-PTP de *B. cenocepacia* no son funcionalmente homologas. El análisis de secuencias múltiples de LMW-PTP de diferentes organismos nos permitió distinguir una diversificación de estas enzimas en dos grupos, ahora referidos como clase II subdivisión I (clase II.I) y clase II subdivisión II (clase II.II). Usando como enzima representativa de la clase II.I a BPtpA de *B. cenocepacia*, demostramos mediante mutagénesis sitio-dirigida que los residuos que definen a este grupo de fosfatasa son funcionalmente importantes. En particular, observamos que los residuos conservados en la α 3-hélice (D80 y F81) son relevantes para la estabilidad de la enzima, mientras que los residuos del W-loop (W47 and H48) aparentemente participan en el reconocimiento y/o especificidad de estas enzimas por sus sustratos. Actualmente, trabajamos en identificar los sustratos fosforilados que reconoce BPtpA y que contribuyen a contender condiciones de estrés en *B. cenocepacia* y especies relacionadas.

Financing: CONACYT, CF-2019 [40760]; PAICYT-UANL [CN1870-21]

ENFERMEDADES INFECCIOSAS DESATENDIDAS

PREVALENCIA DE LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA A PACIENTES DE SENEPA ZONA V, SECTOR II, CAAGUAZÚ, DURANTE EL PERIODO DE JUNIO DEL 2019 A JUNIO DE 2020

Milciades Recalde¹

(1) Universidad Santa Clara de Asis, Caaguazú, Ciencias de la Salud. Carrera Bioquímica, Calle 6 esq. Mariscal Estigarribia - Barrio San Francisco, Caaguazú, Paraguay

Gómez Cardozo A., 1 Melgarejo Rodas C.,¹ Recalde M.,² Blanes M.,³ Alumnos carrera bioquímica USCADirector de Carrera. Carrera Bioquímica USCACoordinadora de Investigación. Carrera Bioquímica USCA Prof. Dr. Milciades Recaldemilciadesrecaldemora@gmail.comPoster La investigación se centró, en determinar la prevalencia de leishmaniosis tegumentaria en pacientes de SENEPA Zona V, Sector II, Caaguazú, con el fin de demostrar la importancia biomédica del vector en un foco específico, donde se muestre el efecto directo del control sobre la transmisión.Materiales y Métodos: Estudio descriptivo observacional retrospectivo de corte trasverso en 99 pacientes que concurrieron al Dpto. de Leishmaniosis SENEPA zona V – Caaguazú de Junio del 2019 a junio del 2020Resultados De los 99 de sujetos en estudio el 12% (24) resultaron positivas. Con edades de 20 a 60 años, asociado principalmente a pobladores que incursionan zonas boscosas o rurales. En cuanto a las lesiones que presentan los pacientes diagnosticados, se observa que en su mayoría presentan lesiones en las piernas en un 26%, lesión en el tabique nasal en un 17% y 7% en el rostro, boca, labios, nariz. En un 45% del diagnóstico de muestra analizada por PCR dieron positivas y solo el 10% de las analizada por Frotis dieron positivo.De esta manera se evidencia que la PCR es un método preciso que genera resultados confiables y reproducibles. En cuanto a los casos positivos hay un pequeño descenso de casos en el año 2020 en comparación al año 2019, que presenta una brecha del 14% de diferencia en los casos positivos, sin embargo hay que tener en cuenta que hubo menos casos de consulta en año 2020.Conclusiones: según los informes se refleja una mayor efectividad de la PCR, pues se denota más casos positivos diagnosticado mediante esta técnica, acorde a lo expuesto por Ibarra – Velasquillo et al(11)que la PCR en Tiempo Real es más precisa y genera resultados confiables y reproducibles comparado a otras técnicas.Las especies Epidemiológicamente más diagnosticadas gracias a la PCR en tiempo real en la zona fueron las Leishmaniosis Braziliense.A pesar de la poca existencia de registros en la zona, se requiere la implementación de medidas que ayude la labor de SENEPA, organismo que se encarga de asistir a pesar de sus limitaciones, es importante recalcar y trabajar con mayor ímpetu en la educación ambiental, el monitoreo de vectores emergentes para el control químico entre otros Como la enfermedad ocurre en regiones rurales donde no se disponen de aparatos muy especializados, es muy importante identificar las especies de leishmania empleando la técnica de PCR con muestras clínicas de pacientes, con resultados que contribuyan a predecir la intensidad de la infección y la tasa de riesgo de expansión de la enfermedad en las áreas endémicas. Según Murray et al. (6), la PCR sirve como ayuda en el diagnóstico de leishmaniosis, utilizando una técnica de hibridación de PCR con oligonucleótidos dirigidos contra regiones conservadas del ADN del cinetoplasto, pudiendo detectar la presencia de células de leishmania, en el 98% de los pacientesclínicamente diagnosticados con leishmaniosis tegumentaria

Palabras claves: leishmania, heteroxenicos, macrófagos parasitados

DETECCIÓN DE *Mycobacterium leprae* Y CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN SANGRE DE PACIENTES PARAGUAYOS Y SUS CONTACTOS INTRADOMICILIARIOS. ESTUDIO PILOTO

Gloira Maiz¹, José Pereira Brunelli², Diego González¹, Leticia Rojas¹, Laura Franco¹, Lorena Meza¹, Belén Echaury¹, Claudia Ramírez², Olga María Almada Olmedo², Vilma Vilma Figueiredo³, Marcia de Berrêdo Pinho³, Eva Nara¹, Geraldo Pereira³, María Cristina Vidal Pessolani³, Chyntia Carolina Díaz Acosta¹

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. UNA, Biología Molecular y Biotecnología, Dr. Cecilio Baez c/ Dr. Gaspar Villamayor, San Lorenzo, Paraguay

(2) Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Programa Nacional del Control de Lepra, Av Dr Gabriel Pellón, San Lorenzo, Paraguay

(3) Fundação Oswaldo Cruz, Laboratorio de Microbiología Celular, Av. Brasil. 4.365, Rio de Janeiro, Brasil

La lepra es una enfermedad crónica de largo periodo de incubación con consecuencias discapacitantes, cuyo diagnóstico se realiza una vez presentadas las manifestaciones clínicas. En los últimos años, en el Paraguay se ha reportado un promedio de 300 casos nuevos al año, inclusive en niños. El principal grupo de riesgo de contraer la enfermedad son los contactos sanos de personas infectadas sin tratamiento. Para controlar la transmisión se necesitan herramientas adicionales que ayuden en la detección de la infección. El presente estudio, tuvo como objetivos: i) caracterizar el perfil demográfico, ii) detectar *M. leprae*, iii) caracterizar el perfil inmunológico en sangre de pacientes con lepra multibacilar (MB), paucibacilar (PB) y sus contactos intradomiciliarios (CMB y CPB) antes del inicio del tratamiento del caso índice. Para ello, fueron evaluados un total de 23 pacientes (16 MB y 7 PB) y 17 contactos intradomiciliarios (14 CMB y 3 CPB) reclutados en el Programa Nacional de Control de Lepra (PNCL) entre los años 2018 al 2020, antes del inicio del tratamiento. Entre los pacientes, el 48% provenía del interior del país y el 50% de los casos tenían antecedentes positivos de contacto cercano con lepra. El 46% y 80% de los pacientes y contactos respectivamente, fueron vacunados con la BCG. Las variables socioeconómicas registradas con mayor frecuencia fueron condiciones de vida hacinadas, trabajo manual, niveles reducidos de ingresos y educación. La detección de ADN de *M. leprae* en sangre total se realizó mediante qPCR para evaluar la región de secuencia repetitiva RLEP empleando sondas, observándose en 11/16 pacientes MB, 5/7 PB, 5/14 CMB y 2/3 CPB. La caracterización inmunológica se realizó mediante ensayos de ELISA in house, evaluando en suero anticuerpos contra antígenos específicos de *M. leprae* como PGL-I y LID-1, obteniéndose para PGL-I una seroreactividad de 81% en MB, 28% PB, 14% CMB y 0% CPB, en cuanto al LID-1, 63% de pacientes MB presentaron seroreactividad. También se evaluó en sangre total el nivel de expresión génica de las citocinas IFN- γ , IL-12, IL-1 β , TNF α e IL-4 mediante RT-qPCR empleando SYBR Green® y se detectó diferencia significativa en el nivel de expresión de IFN- γ entre MB y PB, siendo mayor en PB ($p=0,0371$) y casi nula en MB. En los contactos MB se observó una tendencia de aumento del nivel de expresión génica de IFN- γ e IL-12 comparado con contactos PB. No se observó diferencia con IL-1 β , TNF α e IL-4 en los grupos estudiados. La caracterización de pacientes paraguayos con lepra y sus contactos, mediante diversas técnicas laboratoriales puestas a punto en el presente trabajo, serán empleadas como base para apoyar al PNCL en la detección de pacientes y seguimiento del grupo de riesgo. Actualmente se están analizando muestras obtenidas post tratamiento. Los resultados permitirán sentar bases para ampliar la población de estudio con el objetivo de encontrar biomarcadores que permitan la detección precoz, seguimiento y tratamiento oportuno con el intuito final de disminuir la transmisión y evitar las consecuencias discapacitantes.

Fauna parasitaria en heces de canes y parques públicos de Ñaña, Lurigancho, Lima - Perú 2020

Miguel Angel Otiniano Trujillo¹, Isabel Pilar Pelayo Luis²

(1) Universidad Peruana Unión, Facultad de Ciencias de la Salud, Docente Investigador de la Escuela de Medicina Humana, Km 19 Carretera Central Ñaña Lurigancho, Lima, Perú

(2) Universidad Peruana Unión, Facultad de Ciencias de la Salud, Estudiante de Enfermería, Km 19 Carretera Central Ñaña Lurigancho, Lima, Perú

Las zoonosis parasitarias constituyen un problema de salud pública a nivel de todo el planeta afectando principalmente a poblaciones infantiles. El objetivo de la investigación fue determinar la prevalencia de la fauna parasitaria en heces caninas y suelos de parques públicos, el estudio fue de tipo descriptivo y corte transversal, evaluándose 05 parques en los meses de enero y febrero del 2020, se recolectó 58 muestras de heces de canes y 46 muestras de tierra que fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología de la Escuela de Medicina Humana de la Universidad Peruana Unión, con la técnica de sedimentación y flotación; encontrándose los siguientes resultados en heces de perro: 8,9% *Entamoeba coli*, 5,3% *Echinococcus spp* y *Toxocara spp* 3,5%; y en las muestras de suelo se encontró 36,4% de *Toxocara spp* y 16,8% de *Ancylostomideos spp*. Concluimos una importante fuente potencial zoonótica de helmintos en suelos de parques lo que conlleva a tomar medidas de control y prevención para la población.

Financing: Escuela de Medicina Humana de la Universidad Peruana Unión

Respuesta humoral a *Toxoplasma gondii* y factores de riesgo asociados en población gestante en región fronteriza nororiental de Colombia

Denny Miley Cárdenas Sierra¹, Camila Domínguez Julio¹, María Ximena Blanco Oliveros¹

(1) Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Grupo de Investigación Biogen., Av 4E Calle 10N-61 Urbanización el Bosque, Cúcuta, Colombia

Introducción: La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica parasitaria prevalente en un tercio de la población mundial, la cual afecta negativamente la salud materno-fetal puesto que al ser adquirida por primera vez durante la gestación puede ser causante de daños en el feto tales como hidrocefalia, microcefalia, calcificaciones cerebrales, coriorretinitis o terminar de forma fatal con un aborto. **Objetivo:** La presente investigación propuso evaluar el estado serológico para IgG e IgM anti-*Toxoplasma gondii*, conjuntamente con factores de riesgo de infección en mujeres gestantes de primer trimestre atendidas en el programa de control prenatal en la ciudad de Cúcuta, en el nororiente de Colombia, en el año 2018. **Materiales y Métodos:** estudio transversal de campo con nivel correlacional, a partir de 111 gestantes de primer trimestre de embarazo, vinculadas mediante participación voluntaria, previo consentimiento informado, a quienes se les aplicó un instrumento tipo encuesta y se tomó una única muestra de sangre periférica. A partir del suero obtenido se determinó la presencia de inmunoglobulinas G y M específicas de *T.gondii* mediante técnica inmunoenzimática LIA (recomline TORCH SCREENING IgG- IgM). A partir de la implementación del instrumento de recolección de datos se realizó análisis estadístico basado en la elaboración de distribuciones de frecuencia simple, tablas de contingencia para el cruce de variables y el cálculo de medidas descriptivas, como promedio, media, desviación estándar y rango; para la asociación entre seropositividad a inmunoglobulina G y exposición a factores de riesgo se calculó valor OR con intervalo de confianza (IC) del 95% mediante regresión logística con análisis univariado de variables relevantes, empleando software SPSS v24. **Resultados:** Se halló 19,8% y 35,1% de seropositividad total para IgM e IgG, respectivamente, 11,7% lo fue únicamente para IgM y 53,2% de las gestantes fueron completamente seronegativas para *T.gondii*. Se identificaron factores de riesgo como consumo de carne mal cocida (54,1% de los casos), de agua del grifo (48,6%), de leche cruda de cabra o de vaca (39,6%), además de convivencia con gatos (23,4%), éste último asociado significativamente a seropositividad al parásito (OR = 2,8, p = 0,025). **Conclusiones:** Los hallazgos de nuestro estudio revelan un posible riesgo de primo-infección en más de la mitad de las gestantes evaluadas dada su seronegatividad frente al parásito, pero también dejan entrever una considerablemente alta frecuencia de respuesta humoral IgM específica, conjuntamente con una gran exposición a factores de riesgo en torno a la alimentación y convivencia cercana con felinos durante el embarazo (aspectos prevenibles), como posible reflejo de la población gestante atendida en esta región caracterizada por ser zona fronteriza, teniendo en cuenta que el 54% de la cohorte analizada era de nacionalidad extranjera. Lo anterior sin duda enfoca la atención en la necesidad de extender este tipo de análisis integrado a cada vez más gestantes en control prenatal, realizando vigilancia sobre el cambio del perfil epidemiológico en la región, en miras a la implementación de medidas prioritarias de control y prevención del evento toxoplasmosis gestacional y por ende de sus consecuencias.

Financing: Autofinanciación.

Actividad antiparasitaria y citotóxica in vitro de los venenos de serpientes del género *Bothrops* spp.

Ana Fidelina Gómez Garay¹, Jorge Javier Alfonso Ruiz Diaz¹, Anderson Maciel², Andreimar Martins Soares², Miriam Soledad Rolón¹, María Celeste Vega Gómez¹

(1) Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica, CEDIC-Asunción, Paraguay, Manduvirá 635, Asunción, Paraguay

(2) Fundação Oswaldo Cruz, Rondônia, Brasil., Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde, Campus - BR 364, Km 9,5, Porto Velho, Rondônia

La Leishmaniasis y la enfermedad de Chagas son enfermedades zoonóticas causadas por protozoarios del género *Leishmania* spp. y de la especie *Trypanosoma cruzi*, respectivamente. Clasificadas como enfermedades tropicales desatendidas que afectan a millones de personas, América Latina es considerada una de las regiones endémicas. Ambas enfermedades presentan quimioterapias limitadas, por lo que la identificación de compuestos con potencial antiparasitario que contribuyan al desarrollo de nuevos tratamientos es de extrema importancia. En este contexto, la búsqueda de agentes microbicidas empleando la biodiversidad como fuente de moléculas potencialmente activas contra parásitos es un enfoque abordado por varios grupos de investigación, y en este sentido, los venenos de serpientes que están caracterizados por presentar en su composición una mezcla compleja de proteínas con diversos efectos farmacológicos, representan una alternativa prometedora para la identificación de nuevas moléculas. Considerando lo mencionado, el objetivo de este trabajo fue fraccionar y caracterizar parcialmente venenos de serpientes del género *Bothrops* spp. y evaluar su potencial antiparasitario contra *Leishmania infantum* y *Trypanosoma cruzi*, así como la citotoxicidad sobre fibroblastos murinos (NCTC 929). Los venenos de *B. diporus*, *B. pauloensis*, *B. jararacussu* y *B. moojenifueron* fraccionados por cromatografía de intercambio catiónico utilizando una columna de CM-sepharose (1x60)cm siendo sus fracciones liofilizadas y almacenadas a -20°C. Posteriormente, el contenido proteico de las fracciones cromatográficas fue cuantificado y visualizado el perfil electroforético en gel de Poliacrilamida al 12.5 %. En paralelo, fue evaluado el potencial antiparasitario contra *L. infantum* y contra *T. cruzi*, así como el efecto citotóxico sobre fibroblastos murinos. Luego del fraccionamiento fueron obtenidas 6 fracciones de *B. pauloensis*, 10 fracciones de *B. jararacussu* y *B. moojeni*, y 11 fracciones de *B. diporus*. El dosaje y el perfil electroforético demostraron un alto porcentaje de proteínas con diversas masas moleculares. Los venenos testados contra epimastigotas de *T. cruzi* presentaron valores de IC50 (mg/ml) de: <3,12 (*B. moojeni*); <1,6 (*B. diporus*); <1,6 (*B. pauloensis*); y 0,76 (*B. jararacussu*). Los valores de IC50(mg/ml) contra formas promastigotas de *L. infantum* fueron de 45,76 (*B. diporus*); 26,58 (*B. pauloensis*); 14,2 (*B. moojeni*) y 7,26(*B. jararacussu*). Por otra parte, los ensayos de citotoxicidad resultaron en valores de CC50 (mg/ml) de 18,59 (*B. moojeni*); 2,5 (*B. diporus*); 1,15 (*B. jararacussu*) y 0,89 (*B. pauloensis*). Los resultados de IC50 y CC50 permitieron definir el índice de selectividad contra los parásitos ($IS=CC50/IC50$), siendo el veneno de *B. moojeni* el más selectivo contra epimastigotas de *T. cruzi*. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la gran variabilidad de proteínas, de diversas masas moleculares y puntos isoeléctricos, que están presentes en los venenos botrópicos. Por otro lado, los ensayos biológicos in vitro revelaron potencial antiparasitario, lo que sugiere que deben realizarse ensayos posteriores con las fracciones para identificar los componentes responsables por el efecto antiparasitario y determinar una potencial selectividad de las moléculas derivadas de los venenos botrópicos.

Financing: PRONII, CONACYT. Programa de Repatriación y Radicación de Investigadores y Tecnólogos de Alta Calificación (CONACYT). Fundação Rondônia de Amparo ao Desenvolvimento das Ações Científicas y Tecnológicas e à Pesquisa do Estado de Rondônia. FAPERO/CAPES

Clinical and epidemiological characteristics of paracoccidioidomycosis with head and neck manifestations in southern Brazil

Alessandra Koehler¹, Fábio Muradás Girardi², Leo Kraether Neto³, Paulo Cezar de Moraes¹, Vilmar Fontanive Junior⁴, Maria Lúcia Scroferneker^{1,5}

(1) Postgraduate Program in Medicine: Medical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brazil.

(2) Integrated Oncology Center, Hospital Ana Nery, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

(3) School of Dentistry and Oral Diagnostic Project, Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

(4) Respiratory Department of Instituto de Cardiologia, Fundação Universitária de Cardiologia (IC-FUC), Porto Alegre, RS, Brasil.

(5) Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brazil.

Introduction: Paracoccidioidomycosis (PCM) is a systemic granulomatous disease endemic to Latin America, mainly Brazil. The state of Rio Grande do Sul, in southern Brazil, is a known endemic area of PCM, however its real incidence is unknown due to the small number of published case reports and case series. The objective of the present study was to analyze the clinical and epidemiological characteristics of cases of paracoccidioidomycosis with head and neck manifestations from the East Central region of the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Methods:** Retrospective analysis of cases of PCM with head and neck manifestations referred to two medical centers in the municipality of Santa Cruz do Sul (Rio Grande do Sul, Brazil) during a 10-year period (2011-2020). The medical centers were the Hospital Ana Nery and the Dentistry Clinic of Universidade de Santa Cruz do Sul. All cases were histopathologically diagnosed. **Results:** Twenty-eight patients were selected. The number of cases remained stable during the analyzed period, ranging from one to four cases per year. However, in 2019, there was a considerable increase, with 11 diagnosed cases. Age at diagnosis ranged from 29 to 80 years. The predominant age range was between 40 and 59 years old, with 46% of the patients. In total, 21 (75%) were men and 7 (25%) were women, with the male:female ratio 3:1. Most were Caucasian (92%) and 46% were smokers. Patients were from 12 municipalities of the East Center region of the state of Rio Grande do Sul. Most of the patients (59%) had not finished elementary school. Regarding clinical characteristics, the two most common anatomical sites of the lesions were the soft palate and the larynx, both in six cases, followed by the lips (five cases) and the face skin (four cases). The evolution time of the symptoms was recorded only in ten cases. Among these, eight cases had evolution time between one and four months. A longer time (15 and 24 months) was observed only in two cases. The associated diseases recorded were hepatitis C, HIV, HIV plus pulmonary/ganglionic tuberculosis, diabetes mellitus (each one in one case) and hypertension (three cases). Associated squamous cell carcinoma was present in three cases. **Conclusions:** This was the first study to analyze PCM cases from the East Center region of the state of Rio Grande do Sul. The predominance of men aged between 40 and 59 years and smokers is according with the epidemiological data found in literature. However, we found a lower male:female ratio (3:1) than that usually reported (22:1). The occurrence of a greater number of cases in Caucasian individuals is according to a recent study that showed that white individuals are more affected by PCM. The large increase in cases diagnosed in 2019 is a data that deserves attention and is possibly associated with the climatic conditions of the period. PCM is endemic to southern Brazil and differential diagnosis with granulomatous and neoplastic diseases must always be done, considering that its incidence may be much higher than currently estimated.

Financing: None to declare.

Conocimiento sobre anisakiasis en vendedores y consumidores habituales de pescado en la región de Coquimbo, Chile.

Catalina Rodríguez - Herrera¹, Diego Pérez Narváez¹, Javiera Platero-Araya¹, Francisca Lamas Aguilera¹, Dagianna González Cabello¹, Nicole Urriola - Urriola¹

(1) Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile.

La anisakiasis es una zoonosis causada por la ingestión de larvas de nematodos ascaridoides, principalmente con los miembros de los complejos *Anisakis simplex* (*A. simplex sensu stricto*, *A. pegreffii*, *A. berlandi*), *Pseudoterranova decipiens* (*P. decipiens sensu stricto*, *P. azarasi*, *P. cattani* y otros), *Contracaecum osculatatum*. La incidencia de esta parasitosis es más alta en zonas en las cuales se consumen preparaciones de pescado crudo, como el ceviche, siendo este un plato popular en las costas del Pacífico Sur. En Chile, es una parasitosis emergente. Entre 1976 y 1990 se publicaron 3 casos y en los siguientes 15 años, la cifra aumentó a 25 casos. El objetivo de esta investigación es determinar el conocimiento y la presencia de *Anisakis* spp. en pescados de consumo habitual en tres puntos de comercialización de productos del mar, puerto de Coquimbo, caleta Guayacán y caleta Peñuelas ubicadas en la Región de Coquimbo. Se aplicó un cuestionario de 18 preguntas, durante el período 2019-2020. Las respuestas fueron analizadas utilizando un test de ANOVA con el paquete estadístico SPSS 17.0. Se encuestaron 87 trabajadores y 181 clientes del Puerto de Coquimbo, Caleta de Guayacán y Caleta de Peñuelas. De los encuestados, el 57,84% corresponde a hombres. El 83,96% de la población consume habitualmente pescado, de ellos, el 58,65% consume dos o más veces pescado a la semana. Cerca del 40% de los encuestados consume pescado crudo o poco cocido, con una frecuencia igual o mayor a una vez a la semana. El 45,33% de los vendedores ha visto la presencia de larvas de gusanos similares a *Anisakis* spp. en los pescados que venden. Vendedores y consumidores han visto anisákidos principalmente en merluzas (58,67%). El 71,27% de los encuestados si ve gusanos en los pescados los desecha, no consumiéndolos y aproximadamente el 30% del total de encuestados los consume de igual manera. Al mostrarles un ejemplar de *Anisakis* spp., el 52,24% de los encuestados refieren que ha observado este tipo de parásito en los pescados, destacando que un 71,26% del total de trabajadores de la caleta y del puerto han visto anisákidos en los pescados que venden. El 96,64% de la población encuestada desconoce el cuadro clínico de esta zoonosis y solo un 0,75% conoce al menos un síntoma. El 21,27% conoce al menos una medida de profilaxis para la anisakiasis. En conclusión, es imperante considerar esta zoonosis emergente como un problema de salud pública y generar programas de educación para la población, debido a la creciente costumbre de consumir pescados crudos o con cocción insuficiente y el alto nivel de personas que al observar la presencia de larvas de *Anisakis* spp. consume de igual forma este pescado, así como, al bajo conocimiento sobre esta zoonosis y sus medidas de profilaxis.

Financing: Financiamiento propio del grupo de trabajo "Academia de Investigación de Microbiología y Parasitología - Facultad de Medicina- Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile"

EVALUACIÓN TEMPRANA DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LAS CEPAS VIRULENTA Y NO VIRULENTA DE *Trypanosoma cruzi* PROCEDENTES DE LA REGIÓN ENDÉMICA DEL PERÚ

Edward Valencia Ayala¹, Alexandre Ferreira Marques², João Reis Cunha², Angela Giovanna Vidal Riva¹, Carlos Guillermo Quiroz Carrillo¹, Denise da Silveira Lemos², Daniella Castanheira Bartholomeu²

(1) UNIVERSIDAD DE SAN MARTIN DE PORRES, MEDICINA HUMANA, AV. ALAMEDA DEL CORREGIDOR 1531 - LA MOLINA, LIMA, PERÚ

(2) UNIVERISIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, PARASITOLOGÍA, CIENCIAS BIOLÓGICAS, AV. PRES. ANTONIO CARLOS, 6627 - PAMPULHA, BELO HORIZONTE, BRASIL

Introducción: La enfermedad de Chagas (EC), causada por el protozoo unicelular *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), es endémica en las regiones tropicales y subtropicales de América Latina. En Perú, la región de Arequipa tiene la mayor prevalencia de esta enfermedad. Durante la infección, *T. cruzi* puede invadir cualquier célula nucleada, incluidas las células del sistema inmunológico (macrófagos). Estos macrófagos una vez activados podrían destruir el parásito, controlando su proliferación y diseminación, a través del óxido nítrico (NO), anión superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y radicales hidroxilo, conocidos como especies reactivas de oxígeno (eROS). Sin embargo, *T. cruzi* está equipado con una red de enzimas antioxidantes, peroxidases y dismutasas, ubicadas en diferentes compartimentos sub-celulares y que pueden influir en la capacidad infecciosa y la patogenicidad del parásito. Aunque las funciones precisas de esas enzimas no están claras, la evidencia muestra que pueden proteger al parásito contra las respuestas oxidativas en el citosol de los macrófagos. Las enzimas antioxidantes se encuentran, por tanto, entre los principales factores de virulencia en los tripanosomátidos. **Metodología:** En este estudio analizamos la expresión de las enzimas antioxidantes (TcAPX, TcCPX, TcMPX, TcSodA, TcSodB, TcTrR y TcTrS) durante la infección temprana de macrófagos peritoneales (3 y 24 horas después de la infección), a través de la retro-transcripción y PCR Real Time. La actividad antioxidante fue evaluada en las cepas de *T. cruzi*, provenientes de la región endémica del Perú (Arequipa), caracterizadas como no virulenta (AQP300) y virulenta (AQP-RE). Además, la actividad antioxidante de estas cepas fue comparada con la del clon CL Brener de *T. cruzi*. Así mismo, la capacidad infectiva de AQP-RE y CL Brener fue comparada durante la infección de ratones isogénicos del linaje C57BL/6. **Resultados:** La evaluación de las enzimas antioxidantes mostró que todas estaban sobre-expresadas significativamente ($p < 0,05$) en el clon CL Brener en comparación con las cepas AQP-RE y AQP300, especialmente durante las 24 horas posteriores a la infección. Además, la expresión de algunas enzimas antioxidantes (TcAPX, TcCPX, TcMPX y TcSodB) fue mayor en AQP-RE en comparación con AQP300 ($p < 0,05$). Así mismo, además de tener una menor actividad antioxidante, AQP300 tuvo cero infectividad en ratones C57BL/6. Por otro lado, AQP-RE tuvo una moderada infectividad en ratones C57BL/6, en comparación con el clon CL Brener. Estos resultados sugieren que el grado relativamente pequeño de actividad antioxidante, provoca una infectividad y una capacidad proliferativa más baja en la cepa no virulenta de Arequipa (AQP300). **Conclusión:** La asociación entre una baja actividad antioxidante y una baja capacidad infectiva, corrobora que una mayor actividad enzimática es una ventaja para la propagación de *T. cruzi*. Estos hallazgos refuerzan la idea de que la red de antioxidantes de *T. cruzi* es una diana terapéutica atractiva para el desarrollo de nuevos fármacos anti-tripanosoma.

Financing: Este estudio fue financiado por Banco Mundial a través del Fondo Nacional De Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT / BM), bajo el contrato N ° 03-2019-FONDECYT-BM-INC.INV.

Desarrollo de una PCR en tiempo real TaqMan para la detección de ADN de *Amphimerus sp.* en muestras de heces, cercarias y metacercarias.

Francisco Romero Macias¹, Manuel Calvopiña², Carlos Bastidas Caldes^{1,2,3}, Irina Villacrés Granda⁴, German Burgos^{5,6}

(1) Universidad de las Américas (UDLA), Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas (FICA), Redondel del Ciclista, Antigua Vía a Nayón, Quito EC 170124, Quito, Ecuador

(2) Universidad de las Américas (UDLA), OneHealth Research Group, Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud,, Redondel del Ciclista, Antigua Vía a Nayón, Quito EC 170124, Quito, Ecuador

(3) Universidad de Extremadura, Programa de Doctorado en Salud pública y Animal,, Salud pública y Animal, Extremadura, España

(4) Universidad de Sevilla, Programa de Doctorado Interuniversitario en Ciencias de La Salud, Ciencias de La Salud, Sevilla, España

(5) Universidad de Santiago de Compostela, Grupo de medicina Xenomica, Compostela, España

(6) Universidad De Las Américas, Escuela de Medicina, Redondel del Ciclista, Antigua Vía a Nayón, Quito EC 170124, Quito, Ecuador

Antecedentes: *Amphimerus sp.* es un trematodo hepático zoonótico, transmitido por la ingesta de peces de agua dulce infectados crudos o mal cocidos. Está considerada como una enfermedad parasitaria emergente endémica de regiones tropicales de Ecuador. Las trematodiasis por alimentos son una de las veinte enfermedades tropicales desatendidas según la OMS. Al momento, su diagnóstico está basado en la microscopía con la observación de los huevos en las heces, siendo poco sensitivo y específico debido a la confusión con otros trematodos hepáticos e intestinales. Desarrollar una técnica de diagnóstico sensible y específica que abarque todos los estadios del parásito tanto en sus huéspedes intermediarios como definitivos permitirá el diagnóstico oportuno de los infectados, así como para delimitar la distribución geográfica del parásito en otras regiones y una mejor comprensión de su ecología y ciclo de vida. En este contexto, desarrollamos una PCR en tiempo real con el propósito de detectar ADN de *Amphimerus sp.* en muestras de heces, cercarias y metacercarias. Métodos: Se recolectaron parásitos adultos de *Amphimerus sp.* de humanos infectados; las muestras de cercarias y metacercarias se obtuvieron de caracoles y peces de agua dulce, respectivamente. Dirigidos hacia la región del segundo espaciador transcrito interno (5.8S-rDNA ITS2-28S) de *Amphimerus sp.* se diseñaron 2 cebadores *amphi-F3-FWD/REVPRIMER* junto con una sonda TaqMan (*AmphiProbe*). La sonda tiene ligado al extremo 5' el fluoróforo 6-FAM y al extremo 3' el quencher BHQ-1. Para determinar la especificidad de los cebadores, se analizaron muestras de ADN extraídas por Chelex-100, de los trematodos *Clonorchis sinensis* y otros existentes en la región como *Paragonimus mexicanus* y *Fasciola hepatica* que son filogenéticamente cercanos. Resultados: Los cebadores amplificaron un fragmento de 206 bp de la secuencia ITS2-28S, considerados específicos para *Amphimerus sp.*, como lo demuestra la no amplificación de *C. sinensis*, *P. mexicanus* y *F. hepatica*. La extracción de ADN mediante la resina Chelex-100 alcanzó concentraciones de 29-90 ng/μL y una relación (260/280) de 0.85-1.70. Basado en la construcción de una curva estándar obtenida por diluciones seriadas de un fragmento sintético (GBlock, IdT tech) El rango dinámico del ensayo fue de 0,05 ng/μL a 90 ng/μL. Conclusiones: La PCR en tiempo real desarrollada, proporciona una herramienta útil para la detección específica de ADN de *Amphimerus sp.* en muestras de heces humanas y estadios larvarios del trematodo *Amphimerus sp.* en sus respectivos huéspedes. Esta técnica podría ser aplicada en otros países, en donde se ha documentado la presencia de *Amphimerus sp.* en animales.

Financing: El estudio fue financiado por la Universidad de las Américas (UDLA)

Antiviral bioactivity of resveratrol against Zika virus infection in human retinal pigment epithelial cells

Agostina Belén Marquez^{1,2}, Constanza A. Russo², María Florencia Torti², Claudia S. Sepúlveda^{1,2}, Agustina Alaimo^{1,2}, Cybele C. García^{1,2}

(1) Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad Universitaria, Pabellón II, Int. Güiraldes 2610, C1428EGA, Buenos Aires, Argentina

(2) Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad Universitaria, Pabellón II, Int. Güiraldes 2610, C1428EGA, Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Resveratrol (RES) is a polyphenol with increasing interest for its inhibitory effects on a wide variety of viruses. Zika virus (ZIKV) is an arbovirus which causes a broad spectrum of ophthalmological manifestations in humans. Currently there is no certified therapy or vaccine to treat it, thus it has become a major global health threat. Retinal pigment epithelium (RPE) is highly permissive and susceptible to ZIKV. This work explored the protective effects of RES on ZIKV-infected human RPE cells. RES treatment resulted in a significant reduction of infectious viral particles in infected male ARPE-19 and female hTERT-RPE1 cells. This protection was positively influenced by the action of RES on mitochondrial dynamics. Also, docking studies predicted that RES has a high affinity for two enzymes of the rate-limiting steps of pyrimidine and purine biosynthesis and viral polymerase. This evidence suggests that RES might be a potential antiviral agent to treat ZIKV-induced ocular abnormalities.

Búsqueda de factores de virulencia en hongos del género *Sporothrix* aislados de distintas formas clínicas en Paraguay

Sandra L. Zorrilla^{1,2}, Amiliana Pineda^{1,2}, José Pereira-Brunelli², Ma. Cristina Romero-Rodríguez¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

(2) Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Centro de Especialidades Dermatológicas, San Lorenzo, Paraguay

Introducción: La esporotricosis es una micosis subcutánea causada por hongos termo-dimórficos del género *Sporothrix*, se encuentra entre las micosis desatendidas de los trópicos y presenta alta prevalencia en todo el mundo. Las principales especies son *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* y *Sporothrix globosa*; siendo *S. brasiliensis* la más virulenta, seguida por *S. schenckii*, y *S. globosa* la de menor virulencia. Los factores de virulencia involucran la producción de proteínas y otros metabolitos del hongo para originar la infección y evadir los mecanismos de defensa del hospedero, entre ellos se encuentra la melanina, la catalasa, ureasas y proteasas. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el perfil proteico de las levaduras, la producción de catalasa y velocidad de crecimiento en hongos del género *Sporothrix* aislados en Paraguay en búsqueda de factores de virulencia. **Métodos:** Se analizó un aislado de *S. globosa* y *S. schenckii*, y dos aislados de *S. brasiliensis*, obtenidos de distintas formas clínicas de la enfermedad. La extracción de proteínas se realizó de la forma de levadura por precipitación con ácido tricloroacético en acetona y se cuantificó utilizando el método de Bradford, las proteínas extraídas fueron separadas mediante SDS-PAGE, posteriormente los geles fueron teñidos con Azul de Coomassie G250, se digitalizaron y se realizó el análisis de imagen, las intensidades de bandas fueron analizadas mediante un análisis de componentes principales (PCA). Se utilizó el ensayo de catalasa semicuantitativa para clasificar los aislados con elevada y baja producción de catalasa. Además, se determinó la velocidad de crecimiento de la fase micelial de los aislados en agar BHI midiendo el crecimiento radial de cuadruplicados biológicos de cada aislado durante 21 días a temperatura ambiente. **Resultados:** El rendimiento de la extracción de proteínas para cada aislado no presentó diferencias significativas al aplicar análisis de varianza ANOVA seguido post-test de Tukey ($p > 0,05$). En la SDS-PAGE se han detectado 58 bandas de 180 a 11 kDa, mediante el análisis de componentes principales (PCA) de las bandas consistentes se ha encontrado que cada aislado presenta un perfil característico debido a que no se ha observado ninguna agrupación de los cuatro aislados analizados. Mediante el ensayo de catalasa se encontró que *S. schenckii* produce altos niveles de catalasa, mientras que *S. globosa* produjo los niveles más bajos de la enzima. Entre los dos aislados de *S. brasiliensis* se encontró que solo uno de ellos puede considerarse como un alto productor de catalasa. En cuanto a la velocidad de crecimiento, *S. schenckii* presentó un crecimiento más rápido correspondiente a 0,67 mm en 24hs, mientras que el más lento fue *S. globosa* para el cual se registraron valores de 0,40 mm en 24 hs.

Conclusión: El perfil de proteínas de las formas levaduriformes de todas las proteínas no permitió obtener agrupación definida para los hongos de diferentes especies, debido que a el perfil proteico es muy complejo. Se ha encontrado una producción diferencial de catalasa que concuerda con la gravedad de los signos clínicos observados para los aislados de *S. brasiliensis* y *S. schenckii*.

Identificação fenotípica e perfil de sensibilidade das cepas de *Sporothrix* spp. isoladas de pacientes no hospital universitário Lauro Wanderley em João Pessoa-PB.

Larissa Alves¹, Alan Frazão², Natalia Pazos², Lúcio Castellano³, Francisco Bernardino⁴, Ana Carolina Bernardes³, Felipe Guerra¹

(1) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, João Pessoa, Brasil

(2) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de biomedicina, João Pessoa, Brasil

(3) Universidade Federal da Paraíba, Escola Técnica de Saúde, João Pessoa, Brasil

(4) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Doenças Infecto Parasitária, João Pessoa, Brasil

A esporotricose é uma doença fúngica infecciosa e crônica que acomete homens e animais, causada pela implantação traumática dos fungos do gênero *Sporothrix* spp. Os relatos são escassos sobre a etiologia e o perfil de sensibilidade das cepas de *Sporothrix* que acometem o Nordeste Brasileiro, particularmente na Paraíba. Diante disso, constatou a necessidade de os profissionais conhecerem o comportamento dessa micose, além de identificar as espécies prevalentes na região, sendo de extrema importância uma análise fenotípica para a identificação das espécies, permitindo um maior conhecimento da morfologia, de propriedades fisiológicas, de seus comportamentos, além de observarem o melhor tratamento efetivo para essa doença. Logo este estudo teve como objetivo caracterizar e identificar fenotipicamente as cepas de *Sporothrix* spp. isoladas de pacientes atendidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) localizado em João Pessoa-PB, com seu respectivo perfil de sensibilidade antifúngica. Nesse projeto, foram utilizadas 50 cepas de pacientes atendidos no HULW. Assim analisou-se o crescimento vegetativo em meio ABD (Agar batata dextrose) em diferentes temperaturas, visualizando as características macromorfológicas e micromorfológicas, a assimilação de carboidrato, na qual foi avaliado a capacidade de assimilação dos açúcares glicose, sacarose e rafinose, e o perfil de sensibilidade das espécies aos antifúngicos, que foram testados e avaliados pelo método de microdiluição. Como resultados, na análise macromorfológica, foi observado pigmentação na maioria das culturas, devido a presença da melanina nos conídios fúngicos, sendo a melanina um importante fator de virulência do gênero *Sporothrix* spp. Ao observar o crescimento das cepas frente a diferentes temperaturas, viu-se as variações do crescimento com médias de 39,5mm em 30°C, 17,96 em 35°C e 13,54 em 37°C, com inibição do crescimento na temperatura de 40°C. Na micromorfologia, os conídios apresentaram-se de forma semelhantes em outros estudos. O perfil de assimilação mostrou variação na assimilação da sacarose e rafinose. Com isso, as espécies identificadas foram *S. schenkii*, *S. mexicana* e *S. brasiliensis*, em que o último teve prevalência de 56% (28 cepas) seguida da espécie *S. schenkii* com 42% (22 cepas) e a mexicana com apenas 1 cepa identificada. No teste de sensibilidade, a anfotericina B foi o fármaco mais ativo, seguido pelo itraconazol, enquanto que o fluconazol demonstrou susceptibilidade apenas contra 4 cepas, no entanto a maioria (46 cepas) mostraram ter valores superiores a 64 µg/mL, com isso verificando uma ampla resistência in vitro ao fluconazol como já foi demonstrado em outros estudos.

Financing: Financiado pelo CNPq (Conselho nacional de desenvolvimento científico e tecnológico)

DETECCIÓN INMUNE-INFORMÁTICA DE NUEVOS EPÍTOPOS DE LINFOCITOS B CON POTENCIAL APLICACIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Edward Valencia Ayala¹, Jorge Patrick Mantilla Chauca¹, Nathan Medeiros Honorato², Angela Giovanna Vidal Riva¹, Carlos Alonso Flores Bancayán¹, Arturo Pareja Cruz¹, Carlos Guillermo Quiroz Carrillo¹, Daniella Castanheira Bartholomeu²

(1) UNIVERSIDAD DESAN MARTIN DE PORRES, MEDICINA HUMANA, AV. ALAMEDA DEL CORREGIDOR 1531, LIMA, PERU

(2) UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, PARASITOLOGÍA, CIENCIAS BIOLÓGICAS, Av. PRES. ANTONIO CARLOS 6627 - PAMPULHA, BELO HORIZONTE, BRASIL

Introducción: La enfermedad de Chagas (EC), causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* (T. cruzi), es una zoonosis parasitaria desatendida que afecta de 8 a 12 millones de personas en las regiones tropicales y subtropicales de América Latina, provocando aproximadamente 50.000 muertes anuales. En USA, Japón, Australia, Italia y España, la EC también se ha convertido en un problema de salud pública, debido al gran número de personas infectadas asintomáticas que viven en estos países no endémicos. Aún más preocupante, se estima unas 300 mil personas con la EC en USA, muchas de las cuales no saben que están infectadas. En estas regiones endémicas y no endémicas se han realizado diferentes esfuerzos para el diagnóstico adecuado de la EC, utilizando principalmente métodos serológicos como la hemaglutinación indirecta (HAI), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA. Sin embargo, estos métodos han mostrado baja sensibilidad y poco fiables debido al uso de extractos proteicos y fracciones antigénicas semi-purificadas. Además, la gran variación genética intra-específica, junto con las diferencias proteómicas y genómicas, dificultan el diagnóstico, manejo y tratamiento, lo que se traduce en una carga significativa de morbilidad, discapacidad y mortalidad. **Metodología:** En este estudio utilizamos métodos inmune-informáticos para la predicción de epítomos de linfocitos B, como BepiPred 2.0 y Discotope para caracterizar la estructura lineal (epítomo continuo) y conformacional (epítomo discontinuo), respectivamente. Además, utilizamos una combinación de diferentes métodos, los cuales incluyen: Koloaskar-Tongankar y ABCPred (para determinar la antigenicidad), Emini (para la predicción de accesibilidad), Chou-fasman (para la predicción de acoplamiento beta), Parker (para la predicción de hidrofiliidad) y Pymol (para el modelamiento 3D). Las trans-sialidasas (TS) activas con un dominio SAPA (shed acute-phase antigen), presentes en la superficie de T. cruzi, fueron los antígenos seleccionados a partir del TritypBD (Base de datos de tripanosomatideos), para la predicción de los epítomos de linfocitos B. **Resultados:** Los epítomos seleccionados con los score más altos (300 epítomos) fueron sintetizados en membranas de SPOT-nitrocelulosa y utilizados para la evaluación serológica (Inmunoblot) de pacientes chagásicos (agudos y crónicos) procedentes de diferentes regiones endémicas de Perú, Bolivia y Brasil. Durante los análisis de SPOT, los epítomos con mayor reactividad al pool de sueros de pacientes chagásicos mostraron valores diferenciales de densitometría absoluta y relativa, en comparación al pool de sueros de pacientes con leishmaniasis e individuos sanos (controles negativos). Posteriormente, estos epítomos fueron sintetizados individualmente y utilizados para ensayos de ELISA, los cuales mostraron una alta sensibilidad, especificidad y buena concordancia de acuerdo con el índice kappa. **Conclusión:** Estos resultados nos demuestran que el screening inmune-informático es una herramienta útil para la selección rápida de nuevos epítomos antigénicos óptimos, que podrían ser utilizados para la detección temprana y oportuna de pacientes chagásicos procedentes de diferentes regiones endémicas de Latinoamérica.

Financing: Este estudio es financiado por Banco Mundial a través del Fondo Nacional De Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT / BM), bajo el contrato N ° 03-2019-FONDECYT-BM-INC.INV.

**ECOLOGÍA, EPIDEMIOLOGÍA Y EVOLUCIÓN
MICROBIANA.**

MICROBIOLOGY AND PHYSICOCHEMICAL EVALUATION OF THE WATER OF THE CUICOCHA VOLCANIC LAKE. IMBABURA. ECUADOR.

Marco González¹, Paola Vásquez¹, Diego Alarcón¹, Francisco Viteri¹, Luis Villacis¹, Sandra Escobar², Gerardo Medina³, Judith Araque³, **Felix Andueza L**^{1,3}

(1) Universidad Central del Ecuador, FIGEMPA, FIGEMPA, Avenida Lagasca con Jerónimo Leiton. Ciudadela universitaria FIGEMPA, Quito, Ecuador

(2) Escuela Superior Politecnica del Chimborazo (ESPOCH), Bioquímico y Farmacia, Facultad de Ciencias, Panamericana Sur km 1 1/2,, Riobamba, Ecuador

(3) Universidad de los Andes, Postgrado de Química de Medicamentos. Mención Biotecnología, Farmacia y Bioanálisis, Sector Campo de Oro prolongación avenida principal, Merida, Venezuela

Introduction: Knowing the physicochemical and microbiology of the water of a volcanic lake helps us to understand its ecological and geochemical development, as well as the climatic influence in the past and the state of conservation. In Ecuador, the existing investigations are related to geomorphological, geochemical and volcanological studies, carried out more than 20 years ago and very few microbiological studies have been carried out. Therefore, the objective of the work was to know the current physicochemical and microbiological of the water of the volcanic lake Cuicocha, located in the Province of Imbabura-Ecuador, at 3,068 meters above sea level, at the foot of the Cotacachi volcano in the Ecuadorian Andes. **Materials and Methods:** A sample collection campaign was carried out in 2021, selecting 6 sampling points throughout the lake, taking samples of a volume of 1 liter in each of the selected sites, according to the indicated by the Ecuadorian Standard NTE-INEN 2176-2013 and NTE-INEN-2169-2013. The analysis of the physicochemical parameters of electrical conductivity, dissolved oxygen, pH and temperature was carried out with a multiparameter equipment (Hanna). The microbiological analyzes were carried out according to membrane filtration techniques, using 0.45 μm pore filters, a filtration volume of 100 mL of water and R2A agar culture media for heterotrophic bacteria, cetrimide agar for *Pseudomonas*, salty mannitol agar for *Staphylococcus* and Sabouraud agar with chloramphenicol for molds and yeasts. In the case of total coliforms, Compact Dry plates were used. **Results:** Average electrical conductivity values of 769 $\mu\text{S}/\text{cm}$, dissolved oxygen 5.77 mg/mL, pH 7.94 and water temperature of 14.5 °C were obtained. In the microbiological analysis carried out, average values of 1.77×10^2 CFU/mL of heterotrophic bacteria, 1.4×10 CFU/mL of *Pseudomonas*, 0.2×10 CFU/mL of *Staphylococcus* and 0.5×10 CFU/mL were obtained for molds and yeasts. The presence of coliform cells was detected with an average value of 0.2×10 CFU/mL. **Conclusions:** According to the average results obtained, it can be concluded that it is a psychrophilic lake with low temperature, slightly alkaline pH, with high electrical conductivity, a low concentration of dissolved oxygen and small autochthonous microbiota adapted to the conditions detected, which must be identified and characterized.

Financing: Our gratitude to the research department of the Central University of Ecuador for funding the research through the senior-UCE 045 project

Factores asociados a la mortalidad por tuberculosis en indígenas en Paraguay, 2014 a 2019

Sarita Aguirre¹, Gladys Estigarribia², Guillermo Sequera¹, Gloria Aguilar², Analia Ortiz², Julieta Méndez², Natalia Sosa¹, Ruth Lezcano¹, Natalie Weiler³, Patricia Rios², Mirian Caballero⁴

(1) Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Asunción, Paraguay

(2) Instituto Regional de Investigación en Salud, Coronel Oviedo, Paraguay

(3) Laboratorio Central de Salud Pública, Asunción Paraguay

(4) Centro de Estudios y Formación para el Ecodesarrollo Alter Vida, Asunción, Paraguay

La Tuberculosis (TB) es una enfermedad con gran impacto en la salud pública, tanto a nivel mundial como a nivel nacional. La tasa de mortalidad estimada de TB en Paraguay en 2018 fue de 4,5 por 100.000 hab. Los asentamientos indígenas y los habitantes de zonas rurales presentan un elevado riesgo de padecer tuberculosis. Hay 19 pueblos indígenas en Paraguay. Según el tercer Censo Nacional de Población y Vivienda del 2012 de pueblos indígenas, 117.150 personas indígenas viven en Paraguay, o el 2% de la población se identifica a sí misma como indígena. El objetivo del estudio fue determinar los factores asociados a la mortalidad en indígenas con diagnóstico de tuberculosis en Paraguay, 2014-2019. Se realizó un estudio observacional retrospectivo. Se utilizaron los datos del Programa Nacional de Tuberculosis del Paraguay comprendidos entre los años 2014 a 2019. La variable mortalidad se estudió teniendo en cuenta el tiempo recurrido entre el diagnóstico y el alta o defunción. Se registraron los datos sociodemográficos y factores de riesgo. Se extrajeron los datos en Excel y fueron analizados con Stata 15.0. Se realizó el test de Hazard Ratio (HR) para estimar la letalidad. Se incluyeron 2210 indígenas con diagnóstico de tuberculosis, 53,8% fue del sexo masculino, entre 20 a 39 (32,3%) o 0 a 19 años de edad (30,2%). El 51,3% perteneció a la familia lingüística Guaraní. El 43,9% pertenecía a la zona Chaco mientras el 7,1% a la zona de Asunción y Central. Entre los factores de riesgo se destacan tabaquismo 4,1%, Diabetes 1,9% y VIH/SIDA 1,9%. El tipo de tuberculosis fue mayoritariamente Pulmonar (92,3%). El 91,6% realizó tratamiento previo y un 66,3% un tratamiento estrictamente supervisado. El tratamiento tuvo una duración de 6 meses en el 93,5% de los casos. Durante el 2014 a 2019 se observaron 217 muertes (9,8%). Los factores asociados a la mortalidad en pacientes con TB fueron el tener una edad mayor a 80 años (HR=12,74; CI: 7,11 - 22,84), mayor a 60 años (HR=3,88; CI: 2,46 - 6,13) o 40 a 59 años (HR=3,05; CI: 1,95 - 4,78), tener un diagnóstico de VIH positivo (HR=5,74; CI 3,54-9,30), y tipo de tuberculosis mixta (HR=2,74; CI: 1,59-4,71). La tasa de mortalidad en indígenas en Paraguay es mayor que la mortalidad de la población general. La edad mayor a 40 años, diagnóstico de VIH positivo y tuberculosis mixta, están asociados a un mayor riesgo de muerte.

Financing: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Paraguay. Proyecto PINV18-568

Explorando interacciones mediante la co-inoculación de la ballica perenne con *Beauveria* y *Metarhizium*

Milena Millaray Vera Vera¹, Sarah Zürn¹, Carlos Henríquez¹, Carlos Loncoman¹, Javier Canales^{1,2}, Frank Waller³, Esteban Basoalto⁴, Sigisfredo Garnica¹

(1) Universidad Austral de Chile, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Isla Teja, Valdivia, Chile

(2) Millennium Institute for Integrative Biology (iBio), 2ANID–Millennium Science Initiative Program, Santiago, Chile

(3) Julius-Maximilians Universität Würzburg, Julius-von-Sachs Institute for Biosciences, Pharmaceutical Biology, Germany

(4) Universidad Austral de Chile, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Alimentarias, Isla Teja, Valdivia, Chile

La ballica perenne (*Lolium perenne* L.) posee un alto nivel de calidad nutricional y es ampliamente utilizado como especie forrajera para establecer praderas permanentes en el sur de Chile. Sin embargo, la productividad de la mayoría de estas praderas se ve limitada por diversos agentes ambientales, como las plagas de insectos y la sequía, entre otros. En este contexto, nuestro trabajo resalta la necesidad de dilucidar la capacidad de los hongos endófitos para establecer interacciones simbióticas con insectos y plantas, y entender cómo estos procesos contribuyen al rendimiento y la salud de las plantas. Por lo tanto, evaluamos la colonización y el impacto de dos cepas nativas del grupo de hongos endófitos patógenos de insectos (EIPF) aislados de pastos permanentes de ballica en el sur de Chile. Se recolectaron raíces y semillas de ballica y larvas de escarabajos de nueve pastos diferentes de ballica en la región de Los Ríos, en el sur de Chile, para aislar específicamente EIPFs pertenecientes a los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*. Los aislamientos fúngicos se realizaron en agar agua al 2% con antibióticos, y las cepas se identificaron mediante el análisis del segmento nuclear que incluye el ITS1-5.8S-ITS2 (ITS). Se utilizaron mini-praderas experimentales no inoculadas (control) o co-inoculadas con conidios de las cepas *Beauveria vermiconia* NRRL B-67993 (P55_1) y *Metarhizium* aff. *lepidiotae* NRRL B-67994 (M25_2) bajo dos niveles de humedad del suelo. Se muestrearon plantas de ballica al azar de las mini-praderas para caracterizar la colonización de EIPF en las raíces mediante PCR en tiempo real y microscopía de fluorescencia. Se midió la biomasa aérea para analizar el impacto putativo de la colonización en los rasgos fenotípicos aéreos de las mini-praderas con el software R, utilizando un modelo lineal de efectos mixtos y la prueba estadística ANOVA. Se aislaron cuatro cepas de *Beauveria* y 33 cepas de *Metarhizium* sólo de larvas de escarabajos desde praderas de ballica en cuatro sitios. Se observó una variación estacional en la abundancia relativa de EIPF, que fue similar entre ambas cepas desde el otoño hasta la primavera, pero diferente en verano. En verano, la abundancia relativa de ambos EIPFs disminuyó en condiciones normales de humedad, pero aumentó bajo estrés hídrico. La biomasa aérea de la ballica también aumentó de otoño a primavera y disminuyó en verano tanto en las mini-praderas inoculadas como en los de control. Aunque se observaron diferencias entre los niveles de humedad, no fueron significativas entre las mini-praderas control y los inoculados, excepto en julio (peso fresco) y octubre (peso seco). Nuestros resultados indican que las cepas nativas de *B. vermiconia* NRRL B-67993 (P55_1) y *M. aff. lepidiotae* NRRL B-67994 (M25_2) colonizan y coexisten en las raíces de la ballica, y que éstas tuvieron poco o ningún efecto sobre la biomasa aérea de las mini-praderas; sin embargo, podrían tener otras funciones, como la protección contra la herbivoría de las raíces por parte de insectos plaga.

Characterization of the replicator region of the *Acinetobacter baumannii* plasmid pAba3207a carrying a carbapenem resistance gene (blaOXA-58)[EB1] [EB1]Título: 35 palabras máximo

Angeles Perez-Oseguera¹, Elena Bello-López¹, Miguel Alberto Pantoja-Zepeda¹, Miguel Angel Cevallos¹
(1) Centro de Ciencias Genómicas UNAM, Programa de Genómica Evolutiva, Av. Universidad S/N col. Chamilpa CP 62210, Cuernavaca Morelos, México

Acinetobacter baumannii[EB1] is a Gram-negative bacterium that has become a serious human pathogen and is responsible for a wide variety of infections in intensive care units. The ability to treat *A. baumannii* infections has become challenging. *A. baumannii* isolates with resistance to carbapenems or colistin are now commonly seen, and pan-resistant strains have been reported with increasing frequency. This has prompted the World Health Organization to list *A. baumannii* as a number one priority for the research and development of new antibiotics. *A. baumannii* acquires antibiotic resistance through mobile genetic elements like transposons and plasmids. In this study, we show that *A. baumannii* 3207 strain possesses a blaOXA-58 gene, responsible for its carbapenem resistance, encoded in a 13.47 kb plasmid named pAba3207a. We found that the basic replicon of this plasmid is contained within a 2088 bp fragment. This region confer replication abilities to a suicide vector (pBBR1MCS3) when transformed into *Acinetobacter baylyi* ADP1. We identified the different elements involved in the stable replication of this plasmid. The pAba3207a replicator region was found in *A. baumannii* plasmids containing OXA-type beta-lactamases, but also in plasmids that do not carry this resistance gene. Interestingly, it was also found in plasmids of other bacterial genera such as *Klebsiella*. This replication module contains three genes organized in an operon. A construct carrying an in-frame deletion of repM, the first gene of the operon, is incapable to replicate. The second and third genes of the operon encode an HTH protein and a hypothetical protein, respectively. Constructs in which these two genes were eliminated still capable to replicate, indicating that repM encodes the replication initiation protein and is essential for plasmid replication. Upstream of repM, we found a putative promoter region and 4 short tandem repetition sequences (iterons) usually important for plasmid replication and /or copy-number control. Close to the Iterons, we found a region rich in AT, which probably is the DNA unwinding element (DUE). When one or more iterons were eliminated, the ability to replicate of constructs containing these deletions was lost, indicating that iterons are essential for replication. 300 bp upstream of rep1 first ATG codon, we deleted 50 bp region, the resulting construct is capable to replicate, but their stability is decreased. When we deleted 81 bp or more in the same region, the replication capacity was eliminated. And when we made a transcriptional fusion with a beta-galactosidase promoterless gen, the 81 bp deletion fragment shows no activity, so we assume that this region is a promoter. The pAba3207a 2088 bp replicator region is unable to replicate in a recA minus genetic background. When we complemented with recA in trans, the replication capacity of a plasmid containing this region was restored. This means that RecA protein is playing a role in replication for this plasmid.[EB2] [EB1]Resumen: 500 palabras máximo

Análisis genómico de la transmisión y evolución de resistencia en *M. tuberculosis* en Lima, Perú, 2007-2017

Pablo Tsukayama^{1,4}, Ericka Meza⁴, Conor Meehan², Guillermo Salvatierra¹, Alejandra Dávila-Barclay¹, Timothy Brewer³, Larissa Otero⁴, Ashlee Earl⁵, César Ugarte-Gil⁴, Eduardo Gotuzzo⁴

(1) Laboratorio de Genómica Microbiana, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

(2) University of Bradford, Reino Unido

(3) University of California Los Angeles, EEUU

(4) Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

(5) Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge, EEUU

En 2018, la tuberculosis (TB) fue la principal causa de mortalidad por una enfermedad infecciosa, con un estimado de 10 millones de nuevos casos y 1,5 millones de muertes. A pesar de tener una baja prevalencia de VIH y un programa exitoso de control de la TB, Perú todavía tiene la segunda tasa de TB estimada más alta en las Américas y reportó el 29% de todos los casos de multiresistencia (MDR) para la región en 2018. Lima representa el 65% de nuevos casos de TB y 79% de MDR en Perú, la mayoría de los cuales ocurren en distritos de bajos ingresos sobrepoblados que sirven como puntos críticos de transmisión de TB. Desde 2007, hemos creado una colección de más de 4,000 aislados de *M. tuberculosis* de casos notificados de TB en tres distritos de alta incidencia de TB en Lima, junto con encuestas demográficas y epidemiológicas detalladas. Nuestro objetivo es implementar la secuenciación del genoma completo (WGS) como una herramienta de vigilancia para evaluar la diversidad genética circulante de *M. tuberculosis*, rastrear la evolución de las cepas MDR e identificar los puntos críticos de transmisión en estas comunidades. Anticipamos que la combinación de WGS y datos epidemiológicos extensos dará como resultado una mejor comprensión de la dinámica de transmisión de la TB a nivel comunitario. Reportamos el análisis de 928 genomas de *M. tuberculosis* de esta colección ($n = 463$) y un conjunto de datos previamente publicado de Lima ($n = 465$). Este es, hasta donde sabemos, el estudio genómico más grande de la diversidad de *M. tuberculosis* en las Américas. El pipeline MTBseq se utilizó para procesamiento de lecturas, genotipado, predicción de resistencia a fármacos y análisis de transmisión. Identificamos cepas de los linajes euroamericano (89,2%), Beijing (10,7%) y de África oriental (0,1%), agrupados en 43 espoligotipos. Los clusters de transmisión se estimaron utilizando un límite de 5 SNPs (50% de muestras agrupadas) y 12 SNPs (64% de muestras agrupadas), en línea con 10-20 años de transmisión. Revelamos múltiples grupos dentro de los espoligotipos, destacando la mayor sensibilidad de WGS sobre los métodos de tipificación tradicionales. En conclusión, nuestro estudio mejora el conocimiento de la transmisión local y los patrones de evolución de *M. tuberculosis* en este entorno de alta incidencia. El WGS puede mejorar la vigilancia de *M. tuberculosis* y otros patógenos que circulan en Perú y proporcionar un medio novedoso para evaluar el efecto de las intervenciones de salud pública en las poblaciones de patógenos. Buscamos que nuestros resultados sean tomados como ejemplo para promover la implementación de la vigilancia genómica de la TB en la región.

Financing: Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC #011-2019). Fogarty International Center of the National Institutes of Health (NIH) D43TW009343. University of California Global Health Institute (UCGHI).

Análisis epidemiológico de los marcadores infecciosos procesados en donantes vivos de tejido óseo en un banco de tejidos de la ciudad de Bucaramanga, Colombia

Johanna Tapias Rivera¹, Lida Silva Torres³, Asbleide Karina Angarita Sánchez²

(1) Universidad de Santander, Instrumentación Quirúrgica, Salud, Bucaramanga, Colombia

(2) Universidad de Santander, Bacteriología, Salud, Cúcuta, Colombia

(3) Fundonemos Banco de tejidos, Bucaramanga, Colombia

Introducción. La pérdida de piezas óseas donadas, a causa de marcadores infecciosos reactivos en donantes, representa un problema que conlleva a no brindar soluciones a aquellos pacientes con pérdidas de hueso que requieren el uso de un sustituto óseo. El objetivo de este estudio fue analizar epidemiológicamente los marcadores infecciosos procesados en donantes vivos de tejido óseo entre enero de 2016 y junio de 2019 en un banco de tejidos de la ciudad de Bucaramanga. **Materiales y métodos.** Se realizó un análisis retrospectivo con datos obtenidos de análisis de muestras de suero de 877 donantes vivos de tejido óseo a partir de donaciones quirúrgicas en artroplastia primaria de cadera. Las pruebas analizadas fueron: Detección de Anticuerpos contra *Treponema pallidum* (Sífilis), detección de Anticuerpos contra Virus de Hepatitis C (HCV), detección del Antígeno de superficie del Virus de Hepatitis B (HB), anticuerpos contra el Virus Linfotrópico de células T Humanas (HTLV I-II), detección de Anticuerpos contra el Virus de la Inmunodeficiencia humana (HIV I-II), detección de anticuerpos contra *Trypanosoma Cruzi*, y detección de anticuerpos para Citomegalovirus. **Resultados.** La tasa de rechazo de cabezas femorales de donantes vivos por pruebas infecciosas reactivas a uno o varios de los 8 marcadores utilizados fue de 25%, de estos la edad promedio osciló entre los 32 y los 94 años y con relación al sexo predominó la población de sexo femenino. El marcador infeccioso con más incidencia es HB Core total (11,82%), seguido de anticuerpos contra *Treponema pallidum* (6,42%) y anticuerpos contra *Trypanosoma Cruzi* (3,1%). **Conclusiones.** El riesgo potencial de transmisión de enfermedades infecciosas al receptor de injertos óseos de donante vivo se reduce debido al seguimiento microbiológico adecuado y riguroso realizado por los bancos de tejidos, la principal causa de rechazo de piezas óseas donadas fue la presencia de pruebas reactivas para Hepatitis B, *Treponema pallidum*, *Trypanosoma cruzi* y Citomegalovirus.

Financing: Financiación Universidad de Santander proyecto FI35-20A, Fundonemos Banco de Tejido.

Persistencia ambiental de *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii* en Cúcuta, Norte de Santander.

Asbleide Karina Angarita Sánchez¹, Norida Nataly Velez Cuellar², Claudia Marcela Parra Giraldo², Johanna Tapias Rivera³, Patricia Luz Escandon Hernandez⁴

(1) Universidad de Santander, Bacteriología y Laboratorio Clínico, Salud, Bucaramanga, Colombia

(2) Pontificia Universidad Javeriana, Bacteriología, Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia

(3) Universidad de Santander, Instrumentación quirúrgica, Salud, Bucaramanga, Colombia

(4) Instituto Nacional de Salud, Grupo de Microbiología, Bogotá, Colombia

Introducción. la presencia en el ambiente del agente etiológico de la criptococosis ha sido ampliamente estudiado en Cúcuta desde el primer reporte de su recuperación en 1997. El objetivo de este estudio fue determinar la persistencia de *C. neoformans* y *C. gattii* en 2 zonas de Cúcuta previamente positivas para el hongo. Materiales y métodos. se recolectaron 2160 muestras de corteza, tierra y hojas entre marzo y agosto del 2019 en el parque general Santander (n=720) y estadio (n=1440). Las muestras se procesaron con técnicas convencionales y se identificaron por espectrometría de Masas (MALDI-TOF), se utilizó ArcGIS10 para su georreferenciación. Los datos de temperatura, humedad relativa y precipitación se obtuvieron del Instituto de hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). Resultados. la frecuencia de *Cryptococcus* en el estadio fue de 4% (51/1440) y en el Parque Santander de 2% (16/720). Al discriminar por especie, en la zona estadio en el 84% (43/51) de los árboles positivos se recuperó *C. neoformans* y el restante 16% (8/51) a *C. gattii*. En el Parque Santander, en el 88% (14/16) de los positivos se aisló *C. neoformans* y 12% (2/16). Con relación a los factores climáticos asociados a la presencia del hongo, la mayor frecuencia se evidenció en abril y mayo, época con mayor precipitación y humedad relativa, relacionado con los antecedentes referenciados en la ciudad. Conclusiones. este reporte alerta sobre la presencia de un nuevo nicho de *C. gattii* en el Parque Santander de la ciudad de Cúcuta, y la persistencia de las dos especies en el ambiente. UDES FI88-19

Financing: UDES FI88-19

Análisis genómico de diversidad, resistencia antimicrobiana y potencial de virulencia en cepas clínicas de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* aisladas en Chile

Verónica Bravo¹, Assaf Katz², Lorena Porte³, Thomas Weitzel^{3,4}, Carmen Varela³, Narjol Gonzalez-Escalona⁵, Carlos Blondel¹

(1) Instituto de Ciencias Biomedicas, Facultad de Medicina y Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile

(2) Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

(3) Laboratorio Clínico, Clínica Alemana de Santiago, Facultad de Medicina Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile

(4) Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina (ICIM), Facultad de Medicina Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile

(5) Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Regulatory Science, Division of Microbiology, U.S. Food and Drug Administration, College Park Maryland, United States of America

Campylobacter jejuni y *Campylobacter coli* son la principal causa de gastroenteritis bacteriana en humanos en países industrializados y una amenaza emergente en los países en desarrollo. En Chile, así como también en el resto de América Latina, se dispone de limitados datos genómicos y epidemiológicos sobre la prevalencia de *Campylobacter* spp en comparación con otros patógenos bacterianos entéricos, principalmente debido a la falta de métodos de diagnóstico adecuados. En el presente estudio, realizamos un análisis genómico en profundidad de la diversidad genética, virulencia y resistencia antimicrobiana de cepas clínicas de *Campylobacter* (n = 81), recolectadas durante 2017-2019 en Santiago, Chile. Esta colección de cepas representa más de un tercio de las secuencias genómicas disponibles de aislados clínicos de este enteropatógeno en Sudamérica. El análisis de cgMLST identificó una alta diversidad genética en las cepas de *C. jejuni*, así como 13 nuevos ST en *C. jejuni* y *C. coli*. Los análisis de pangenoma y viruloma mostraron una distribución diferencial de factores de virulencia descritos para *Campylobacter* spp, incluidos los T6SS y T4SS codificados tanto en plásmidos como en el cromosoma. El análisis del resistoma mostró un porcentaje importante de resistencia a fluoroquinolonas y bajos niveles de resistencia a eritromicina. Este estudio proporciona valiosos datos genómicos y epidemiológicos y destaca la necesidad de realizar más estudios de epidemiología genómica en Chile y otros países de América Latina para determinar la dinámica de transmisión de *Campylobacter* a los humanos y la posible aparición de nuevos marcadores de virulencia y resistencia a antimicrobianos.

Financing: Howard Hughes Medical Institute-Gulbenkian International Research Scholar #55008749, FONDECYT 1201805 (ANID) y REDI170269 (ANID). FONDECYT 1191074 (ANID). MCMi Challenge Grants program proposal number 2018-646 and the FDA Foods Program Intramural Funds.

Variaciones genómicas únicas de la cepa antártica *Sphingomonas alpina* So64.6b

Kattia Rebeca Núñez Montero^{1,2}, Leticia Barrientos Díaz Díaz¹

(1) Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, Universidad de La Frontera, Avenida Alemania 0458, Temuco 4810296, Chile

(2) Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago 159-7050, Costa Rica

Las cepas pertenecientes a la familia Sphingomonadaceae tienen un gran potencial para aplicaciones biotecnológicas, por ejemplo, en la biorremediación y degradación de contaminantes refractarios y en la producción de valiosos biopolímeros denominados esfinganos que tienen un papel importante como promotores del crecimiento en plantas. Especialmente el género *Sphingomonas* ha sido caracterizado como degradador de múltiples contaminantes ambientales, por lo que, además de su rol como mejorador de suelos, tiene un papel ambiental relevante en el reciclaje de moléculas complejas. Además, debido a su capacidad de almacenamiento de metales pesados, ha mostrado mejorar la resistencia de plantas en ambientes con altos contenidos de Zinc, Cadmio y Cobre, además de colaborar en condiciones de estrés como sequía [343]. El objetivo de este trabajo fue caracterizar los elementos genómicos diferenciales de la bacteria antártica *Sphingomonas alpina* So64.6. Para esto el DNA de la cepa fue secuenciado con las tecnologías Illumina y ONT para la obtención de un genoma cerrado y completo. Este fue estudiado a profundidad para definir las características diferenciales de la cepa antártica respecto a los genomas de referencia del género *Sphingomonas* disponibles en las bases de datos. Para esto se realizaron construcciones filogenéticas basadas en el gen 16SrRNA, proteoma y genoma core; análisis de pangenoma y genes ortólogos. Los resultados mostraron que la cepa más cercana corresponde a *S. alpina* y sugiere que estos organismos forman parte de la misma especie, sin embargo, presentaron una alta variación en la identidad promedio de su secuencia genómica debido a genes accesorios diferenciales entre ambas cepas. La cepa antártica So64.6b mostró proteínas únicas de transposasas, elementos de inserción y proteínas relacionadas con la degradación de contaminantes incluyendo benzoato, galato, lignina, xilano y tetrahidrofolato, que no se encontraron en la cepa alpina de referencia. Los resultados, también, destacaron el dinamismo de este grupo, pues muchos de estos genes se encontraron en islas genómicas y pueden ser provenientes de eventos de transferencia horizontal. Esta cepa, además, mostró una alta diversidad de clúster biosintéticos potencialmente asociados a la producción de moléculas antibióticas nuevas. Esto demuestra una gran capacidad de resistencia a metales y degradación de contaminantes, que parecen ser únicos de la cepa antártica estudiada y ausentes incluso en otras cepas de su misma especie. Nuestro trabajo destaca la influencia que pudo haber ejercido la presión selectiva del ambiente antártico en la evolución y conformación genética de la cepa antártica en estudio, y el rol esencial que probablemente cumple en el suelo de la Antártica, protegiendo a otros organismos de compuestos perjudiciales.

Financing: Proyectos, DI21-2017, INACH DG_19-01, NEXER NXR17-0003 y Beca Doctoral CONICYT- PFCHA/ Doctorado Nacional/2017-21170263,

Epidemiología genómica de SARS-CoV-2 en Asunción y Departamento Central de enero a mayo de 2021

Iara Magaly Martínez Pereira¹, Fátima Cardozo², María Eugenia Galeano¹, Adriana Valenzuela², Laura Franco¹, Chyntia Díaz¹, Alejandra Rojas³, Leticia Rojas¹, Jonás Fernández¹, Joel Ortíz¹, Florencia Del Puerto⁴, Laura Mendoza², Letizia Carpinelli⁵, Fátima Ovando⁶, Mario Martínez⁷, Eva Nara¹

(1) IICS-UNA, Biología Molecular y Biotecnología

(2) IICS-UNA, Salud Pública

(3) IICS-UNA, Producción

(4) IICS-UNA, Medicina Tropical

(5) Laboratorio CYRLAB

(6) FCM-UNA, Hospital de Clínicas

(7) IICS-UNA, Comité Técnico de Contingencia COVID-19

Paraguay experimentó la ola más alta de casos de COVID-19 en mayo del 2021. A través de la secuenciación de 120 genomas completos SARS-CoV-2 de casos de Asunción y el Departamento Central, de enero a mayo de 2021, se pudo observar que el linaje B.1.1.28 circulaba como mayoritario a inicios del año, junto con los linajes B.1.1.33, B.1.499 y N3. A mediados de febrero, se observó la disminución y/o desaparición de estos y se identificó la circulación de los linajes P2 y A.2.5.2 así como los linajes de alta transmisibilidad B.1.1.7 (alfa) y P1 (gamma). B.1.1.7 fue detectado de manera esporádica, sin embargo, se observó un aumento continuo del linaje P1, el cual se constituyó en más del 90% de las variantes circulantes para finales de abril. Estos resultados sugieren que la introducción y predominancia de un linaje de mayor transmisibilidad como P1, contribuyeron a acelerar el aumento de casos durante el mes de mayo de 2021 y muestran a la genómica como una herramienta de utilidad para la predicción de escenarios epidemiológicos.

Financing: CONACYT, PARAGUAY

DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DE ROTAVIRUS A POST-VACUNACIÓN EN LA POBLACIÓN DE ASUNCIÓN Y GRAN ASUNCIÓN DEL 2019

Ivana Preciosa Fernández¹, Roque Morel¹, Jonas Fernández¹, Carolina Campos², María Eugenia Galeano¹, Magaly Martínez¹

(1) IICS-UNA, Biología Molecular y Biotecnología

(2) Hospital General de Barrio Obrero, Laboratorio de Análisis Clínicos

Los rotavirus del grupo A (RVA) son los principales agentes etiológicos de gastroenteritis aguda en la población infantil. La clasificación binaria de los RVA se basa en la secuencia de nucleótidos de los genes VP7 (tipo G) y VP4 (tipo P). Fueron colectadas 377 muestras fecales de casos de diarrea infantil de junio a octubre de 2019 en Asunción y Gran Asunción. Se determinó el genotipo de las muestras positivas mediante RT-PCR y se secuenciaron los genes VP7 y VP4 de todos los genotipos determinados e indeterminados. Los genotipos detectados con mayor frecuencia fueron G6P[8] (72,7%), seguido de G3P[8] (7,8%). Los rotavirus G6P[8] y G3P[8] detectados presentan dos características en común: i. Poseen una VP7 de origen zoonótico (bovino y equino respectivamente) y ii. Agrupan filogenéticamente con otras cepas que poseen genes del tipo DS-1-like de rotavirus de humanos en su constelación génica. La circulación de cepas de RVA con este tipo de eventos evolutivos se han ido incrementando en el mundo, sin embargo, todavía no es posible determinar si estos cambios se deban a la presión selectiva que pudiera inducir la vacunación. La vacunación contra rotavirus ha sido exitosa para reducir la severidad de la enfermedad, sin embargo, el éxito aparente de cepas de RVA que presentan este tipo de constelación génica no común, puede presentar un desafío para los programas de vacunación y enfatiza la necesidad de un monitoreo continuo de los rotavirus circulantes.

Financing: CONACYT, PARAGUAY

Análisis bioinformático comparativo del viruloma, resistoma y mobiloma en genomas completos de *E. coli* uropatógena y *E. coli* comensal.

Suemy Anahí Cen Nájera¹, Gerardo Cortés Cortés¹, María Guadalupe Balbuena Alonso¹, Rosa del Carmen Rocha Gracia¹, Patricia Lozano Zarain¹, Margarita María de la Paz Arenas Hernández¹

(1) Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Posgrado en Microbiología, Edificio IC11 2do. Piso. 24 Sur y Av. San Claudio Ciudad Universitaria, CP. 72570., Puebla, México

Escherichia coli es generalmente conocida como una bacteria comensal habitante del tracto gastrointestinal; sin embargo, puede actuar como un patógeno causando enfermedades intestinales y extraintestinales, como las infecciones del tracto urinario (ITU). Alrededor del mundo se registran de 130-175 millones de ITU cada año, donde el principal agente causal es *E. coli* uropatógena (UPEC) representado un 70-90% de los casos. Es aceptado que el origen de estas cepas es comensal y que a través de la vía fecal-perineal-uretral estas cepas pueden desencadenar una ITU. Además, UPEC codifica diversos factores de virulencia y resistencia antimicrobiana para desarrollarse y permanecer en las diferentes etapas de la patogénesis. Para conocer el potencial patogénico que poseen las cepas Comensales comparadas con las UPEC, se analizó *in silico* (mediante el uso de herramientas bioinformáticas de libre acceso), el viruloma, resistoma y mobiloma de genomas completos (UPEC y Comensales) depositados en la base de datos del GenBank, reportados hasta el 31 de diciembre de 2020, para así describir las similitudes y/o diferencias entre ellos. Se encontró similitud en el contenido de genes de virulencia en las cepas de ambas poblaciones, siendo los genes *terC* y *gad* que confieren resistencia al telurio y al ácido estomacal, respectivamente, (>80% en ambos genomas) y la hemolisina *hlyE* (>70% en ambos genomas), los más frecuentemente detectados. Los genes de resistencia a antimicrobianos se encontraron con mayor prevalencia en UPEC (708 genes), y aunque en los genomas comensales este número fue menor (382 genes), estos se asociaron a la resistencia de las mismas familias de antibióticos que UPEC, siendo más pronunciada la presencia de genes asociados a resistencia frente a los aminoglucósidos y betalactámicos en ambos tipos de genomas. Los elementos genéticos móviles y movilizables fueron los mismos en ambos tipos de genomas, destacando la presencia de plásmidos (UPEC= 233 y Comensales= 227), integrones (UPEC= 36 y Comensales= 18), secuencias de inserción, transposones compuestos y repeticiones invertidas miniatura, con ligeras diferencias numéricas atribuidas a la cantidad de copias codificadas en los diferentes genomas. Con los resultados obtenidos, se evidenció que las cepas comensales poseen el potencial patogénico para poder desencadenar una ITU. El análisis también mostró la presencia de determinantes de resistencia y elementos genéticos de movilización comunes entre las cepas de ambas poblaciones, lo que en conjunto con la convergencia de la triada ecológica, apoya el origen comensal de UPEC.

Financing: Proyecto CONACYT A1-S-22136 del fondo FOSEC SEP-Investigación Básica.

Caracterización clonal, filogenética y genotípica de una colección de genomas *E. coli* O25:H4 aislados durante 2005-2008

Nain Gabriela Pedroza Viveros¹, Margarita María de la Paz Arenas Hernández¹, Claudia Fabiola Martínez de la Peña¹, Rosa del Carmen Rocha Gracia¹, Patricia Lozano Zarain¹, Tanya Karen López Flores¹

(1) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Av San Claudio 1814, Jardines de San Manuel, Ciudad Universitaria, 72570, Puebla de Zaragoza, México

Las ITU son de las infecciones bacterianas más comunes, »150 millones de personas cursan una ITU anualmente. En ocasiones no son diagnosticadas adecuadamente, provocando complicaciones o cronicidad. *E. coli* uropatógena o UPEC es el principal agente etiológico tanto de ITU nosocomiales como de las adquiridas en la comunidad. Recientemente ha surgido a nivel mundial, el clon O25:H4-B2-ST131, asociado a ITU y sepsis y que posee genes tanto de virulencia como de resistencia a betalactámicos (blaCTX-M), fluoroquinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol entre otros. Dentro de este complejo clonal, el subclón ST131-H30Rx se considera pandémico. El objetivo del presente trabajo consistió en analizar las características de patogenicidad de genomas obtenidos en bases de datos de libre acceso de cepas UPEC O25:H4 usando herramientas bioinformáticas para el análisis. Se colectaron 62 genomas (2005-2018) de cepas aisladas de sangre (45.1%), orina (19.4%) y heces (25.8%). Todas pertenecen al filogrupo B2 (100%). El 96.8% pertenece a la secuencia tipo ST131 y el resto a ST2279 (3.2%). Se identificó el clado C (fimH30) con un 79% que fue el predominante y a su vez, dentro de este, el subclón H30-Rx (67.35%) y H30-R (32.65%). Otros clados fueron el A, mediado por fimH27 (3.2%), B fimH22 (4.8%) y fimH41 (4.8%). Se realizó determinación de virotipo de acuerdo al esquema de Blanco (2013), predominando el virotipo C (74.2%), seguido de A (11.3%) y D (8.1%); una cepa (1.6%) perteneció al virotipo E, recientemente asignado por nuestro grupo de trabajo (datos no publicados). 55 cepas (89%) albergaron al menos 1 plásmido y los replicones más comunes pertenecieron al grupo IncF (44.4%), subdividiéndose en multireplicones (31.6%) y con un solo replicón (12.8%). Se identificaron los genes blaCTX-M en 49 genomas (79%), y los grupos a los que pertenecieron fueron el grupo 1 en plásmido (50.7%) y cromosoma (30.4%) y el grupo 9 en plásmido (10.2%) y cromosoma (8.7%). Los genes blaCTX-M prevalentes fueron blaCTX-M-15 en cromosoma (29%) y plásmido (46.4%) y blaCTX-M-14 en cromosoma (8.7%) y plásmido (1.45%). Se observó una asociación de estos genes con las secuencias de inserción IS26 para blaCTX-M-15 (66.7%) y blaCTX-M-14 (25%) e IS Ecp1 con blaCTX-M-15 (18.5%) y blaCTX-M-14 (75%). Se identificaron determinantes de resistencia hacia antibióticos betalactámicos, reportando altos índices de resistencia en penicilinas (93.5%), cefalosporinas (93.5%) y monobactámicos (80.6%). Para los no betalactámicos, predominaron quinolonas (100%), aminoglucósidos (72.6%) y sulfonamidas (51.6%). También se buscaron genes de virulencia asociados a cepas UPEC, donde *fyuA* y *malX* fueron prevalentes en todas las cepas (100%), seguidos por *chuA* y *yfcV* (98.4%), *fimH* (95.2%) e *iha*, *sat*, *sitA*, *iutA* (91.9%). Finalmente, se realizó la búsqueda de cepas híbridas, localizando 2 cepas (3.2%) con patotipo UPEC-DEC. Con base en este análisis, podemos conocer aquellos determinantes de resistencia y virulencia que distinguen a cepas de *E. coli* O25:H4-B2-ST131 hasta ahora secuenciadas. Conocer la localización cromosómica y/o plasmídica de estos genes e inferir su potencial para la diseminación de estas propiedades representa un avance para establecer estrategias que conduzcan al control y tratamiento de este importante patógeno.

Financing: Este trabajo fue realizado con apoyo de Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP), Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP)

Genomic islands and genes encoding transfer RNAs as drivers of genome evolution in *Klebsiella*

Andrés Esteban Marcoleta Caldera¹, Patricio Arros Muñoz¹, Marcelo Veloso¹, Camilo Berríos Pastén¹, Rosalba Lagos¹

(1) Universidad de Chile, Biología, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425 Ñuñoa, Santiago, Chile

Besides being an epidemiologically relevant pathogen, *Klebsiella pneumoniae* stands out due to its remarkable genome plasticity and genetic variability, being an attractive model to study bacterial chromosome evolution and horizontal gene transfer. Our group has focused on a particular kind of mobile genetic element named genomic islands, which are ~5 to 200-kbp DNA segments integrating at defined chromosome positions and, in some cases, transferrable through conjugation. In this talk, we will summarize our studies to characterize the vast diversity of genomic islands present among *K. pneumoniae* genomes and their possible role in virulence, as well as to understand the usage of genes coding transfer RNAs as integration sites for these elements.

Financing: FONDECYT 11181135

Estudio de mutaciones sinónimas y no sinónimas en genes de la isla de patogenicidad LEE y en genes cromosómicos en cepas *Escherichia coli* Enterohemorrágica y Enteropatogénica

Camila Andrea Miranda Cárdenas^{1,2}, Roberto Vidal², Omar Orellana Orellana¹, **Boris Riveros Rodríguez**¹

(1) Universidad de Chile, ICBM, Medicina, Independencia 1027, Bloque D, Santiago, Chile

(2) Universidad de Chile, ICBM, Medicina, Independencia 1027, Programa de Microbiología y Micología, Santiago, Chile

El código genético es redundante, esto implica que para 18 de los 20 aminoácidos utilizados para sintetizar proteínas existen 2 o más codones que los codifican (codones sinónimos). El uso diferencial de codones sinónimos (sesgo de codones) varía para cada especie bacteriana, encontrándose codones sinónimos de alto y bajo uso, que generalmente se asocian con la cantidad de genes de tRNAs para decodificar estos codones. Se piensa que la distribución de codones de alto y bajo uso en un mRNA genera variaciones en la rapidez de la traducción, permitiendo que las proteínas se puedan plegar de manera correcta. Mutaciones sinónimas en un gen podrían modificar la velocidad de traducción del mRNA generando alteraciones en el plegamiento que pueden afectar la actividad o función de esa proteína. En bacterias patogénicas, los cambios sinónimos en genes de virulencia podrían afectarla, alterando el proceso de infección. En este estudio se analizaron los cambios sinónimos y no sinónimos en los genes *grlR*, *grlA*, *ler*, *espF*, *espA* de la isla LEE y el gen *hfq* en 14 cepas de *Escherichia coli* Enterohemorrágicas (EHEC) y Enteropatogénicas (EPEC). Para observar estos cambios se realizaron análisis in silico alineando las secuencias nucleotídicas y aminoácidas de los genes mencionados obtenidas desde GenBank. Analizando los alineamientos de las secuencias de genes realizados, encontramos que para los genes de la isla LEE, *espA* hay 54 cambios sinónimos y 54 cambios no sinónimos, para *espF* encontramos 85 cambios no sinónimos y 65 cambios sinónimos. Para los genes *grlA* encontramos 7 cambios no sinónimos y 10 cambios sinónimos que se encuentran mayormente localizados en el extremo carboxilo terminal y en *grlR* encontramos 8 mutaciones sinónimas localizadas en el extremo amino terminal y 11 mutaciones no sinónimas localizadas en su mayoría en el extremo carboxilo terminal. Por otro lado, el gen *ler* posee 4 mutaciones no sinónimas y 18 mutaciones sinónimas distribuidas por todo el gen. El gen cromosomal *hfq* posee sólo 3 mutaciones sinónimas. Por otro lado, muchos cambios de aminoácidos vistos en las proteínas corresponden a reemplazos por aminoácidos del mismo grupo. También se realizaron análisis filogenéticos utilizando el programa Mega y el algoritmo de neighbor joining, observando que las 14 cepas analizadas se agruparon en dos grandes clados filogenéticos que se mantuvieron para todos los genes de la isla LEE analizados y que permiten separar las cepas de EPEC de las STEC. Al realizar un análisis filogenético de genes que se encuentran fuera de la isla LEE, se genera una agrupación diferente. Dado que esta isla genómica es de gran relevancia para el cuadro infeccioso desarrollado por estas bacterias, cambios sinónimos que lleven a variaciones de la velocidad de traducción de estos mRNAs hacen pensar que podrían reflejar cambios fenotípicos en su mecanismo de patogenicidad (ej: formación de pedestal). Estas diferencias observadas pueden tener una relación evolutiva de la isla LEE en las cepas estudiadas. Estos resultados nos permitirían realizar mutaciones sinónimas en la cepa EPEC O127:H6 y analizar si esto modifica su patrón de virulencia.

Financing: Fondecyt 1190552 a OO, Beca María Ghilardi Venegas a CM

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL RESISTOMA Y VIRULOMA DE CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* PROVENIENTES DE DIFERENTES NICHOS ECOLÓGICOS.

Jessica Gómez Martínez¹, Rosa del Carmen Rocha Gracia¹, María Elena Bello López², Miguel Castañeda Lucio¹, Miguel Ángel Cevallos Gaos², Yolanda Saenz Domínguez³, Margarita María de la Paz Arenas Hernández¹, Guadalupe Jimenez Flores⁴, Patricia Lozano Zaráin¹

(1) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Instituto de Ciencias, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Puebla, México

(2) Universidad Autónoma de México, Centro de Ciencias Genómicas, Cuernavaca, México

(3) Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), Área de Microbiología Molecular, La Rioja, España

(4) Hospital Regional ISSSTE Puebla, Puebla, México

INTRODUCCIÓN: *Pseudomonas aeruginosa* es un microorganismo ubicuo y coloniza diferentes nichos ecológicos; es considerado un patógeno oportunista. Su capacidad patogénica se debe a que posee diversos factores de virulencia y mecanismos intrínsecos para resistir a los antimicrobianos, que son potenciados por la adquisición de genes mediante transferencia horizontal y por mutaciones en genes cromosomales. **OBJETIVO:** Comparar el resistoma y viruloma de cepas de *P. aeruginosa* clínicas (orina y esputo) y ambientales. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se incluyeron cuatro cepas: PE52, PE63 y PE83 aisladas de urocultivo y PE21 de esputo, de pacientes internados en el Hospital Regional I.S.S.S.T.E de Puebla, México. Se purificó el ADN total; se secuenciaron con Illumina Miseq 2x150 pb. Se ensamblaron con SPAdes y MetAssemble. También se incluyeron los genomas completos de 19 cepas de orina, 20 cepas de esputo (sin fibrosis quística), 20 ambientales y las cepas de referencia PAO1 y PA14 obtenidos del GenBank. Las secuencias se analizaron con: RAST, Prokka, MLST 2.0, Roary, ResFinder 4.1, CARD, Clustal omega, ISFinder, IntegronFinder, VFDB y Phandango. **RESULTADOS:** Se detectaron ST de alto riesgo en los 3 grupos (orina, esputo y ambientales); siendo más prevalentes en las de esputo (75%). El pangenoma de todas las cepas fue de 19,620 genes, el genoma core 4,405 genes, el soft-core 750 genes, el Shell 1,977 genes y el cloud de 12,488 genes. Las cepas de orina y esputo perdieron genes del soft-core relacionados con la supervivencia en el ambiente. Las cepas del hospital de Puebla portaron genes blaOXA-2 y catA1. Las cepas de orina portaron blaIMP. Las cepas de esputo portaron blaKPC-2 y BLEEs tipo blaPER, blaVEB, blaPME-1. Los genes dfrB, arr3, msrE y cmx sólo estuvieron presentes en cepas de esputo. Las cepas ambientales portaron genes del resistoma intrínseco (fosA, ampC, catB7, aph(3')-lib, blaOXA-50). Los genes blaIMP, blaOXA, blaGES fueron acarreadas por integrones clase 1, y blaKPC, blaNDM, blaPER, blaPME por transposones. Cinco cepas de orina, 2 de esputo y 1 ambiental fueron portadoras de plásmidos. Las cepas clínicas presentaron mutaciones relacionadas con la resistencia en los genes ampD, oprD, gyrA, parC, mexR y parS; y las ambientales en ampD, oprD y mexR. Los genes de virulencia pvdE, toxA, lasB y lasA los portaron todas las cepas; exoS y exoY fueron más prevalentes en cepas de orina (68% y 86%); exoU y pldA en cepa de esputo (57% y 71%). **CONCLUSIÓN:** El pangenoma de las cepas en estudio fue más grande que lo reportado en otros estudios. Se observó pérdida de genes del soft-core en las cepas clínicas relacionados con la supervivencia en el ambiente. Las cepas de esputo portaron mayor cantidad de genes de resistencia provenientes de enterobacterias con respecto a las de orina. Las cepas ambientales presentaron mutaciones relacionadas con la resistencia. Las cepas de orina portaron mayor número de plásmidos. El gen exoU fue más prevalente en cepas de esputo y exoS en cepas de orina. Se evidencia que la variabilidad en el contenido genético de *P. aeruginosa* es dependiente del nicho ecológico en el que se encuentre.

Financing: VIAEP-BUAP: 100031833-VIEP2019

Comparative genomics and pangenomics of the Nocardiospiceae family reveals insights into marine gene adaptations of strain VN6-2, a novel marine Actinobacteria isolated from Valparaíso Bay, Chile

Fernanda Paz Claverías Ramos^{1,2}, Roberto E. Durán², Michael Seeger², Beatriz Cámara²

(1) Universidad Austral de Chile, Escuela de graduados, Facultad de Ciencias, Independencia 631, Valdivia, Chile

(2) Universidad Técnica Federico Santa María, Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt & Departamento de Química, Avenida España 1680, Valparaíso, Chile

Extreme physiochemical conditions (low or high pH, high salinity, low or high temperature, etc) were once speculated as life impeding factors, but still environments with these characteristics are habitats for plenty of microorganisms. Bacteria that inhabit saline or alkaline habitats have developed metabolic and physiological strategies to thrive in these conditions. Genetic determinants associated to adaptation mechanisms for high salinity and alkalinity have been characterized, including osmoprotectant biosynthesis (ect and bet genes), mechanosensitive channels (mscL gene), and sodium/proton antiporters (mrpA-F genes). The family Nocardiospiceae was proposed by Rainey and colleagues, and includes 12 genera with Nocardiosis as the type genus. The family is widely distributed, mostly isolated from soil samples. However, one of the most remarkable features is its ecological versatility. Most species of the Nocardiospiceae live in harsh environments, commonly isolated from saline or alkaline habitats such as salterns, desert soil, or marine settings. Strain VN6-2 is a novel Actinobacteria isolated from a marine sediment sample collected from Valparaíso Bay, Chile, and belongs to the family Nocardiospiceae. This study aims to characterize the association between the presence of genetic determinants of Nocardiospiceae strain including strain VN6-2 and their physiological response to salinity and pH fluctuations, by comparative genomics, pangenomic, and reported growth parameters analysis of the Nocardiospiceae family. 47 species corresponding to type strains of the Nocardiospiceae family, including strain VN6-2, were studied considering the isolating source, and their phenotypic characteristics, such as optimum range of pH and salinity. The identification of the genetic determinants was performed using the GET_HOMOLOGUES and Orthofinder software. A phylogenomic tree was constructed with UBCG program, and with the presence/absence data of the genetic determinants were visualized using iTOL. Physiological assessments showed that the VN6-2 strain was alkaliphilic and slightly halophilic. 66% of the studied species of the family are halotolerant or halophilic and 36% alkaliphilic or alkalitolerant. Pangenomic analysis of Nocardiospiceae evidenced 677 unique gene clusters of strain VN6-2, including genes encoding for solute transporters that could be related to its saline tolerance adaptations. The presence or absence of identified genetic determinants in the genomes of the Nocardiospiceae family were associated with previously reported growth parameters in salinity and/or pH, and isolation environments. It was notable that different types of clade-specific Na⁺/H⁺ antiporters (mrp operon) were found, which support the separation of the Nocardiosis genus observed in other studies. Furthermore, it was found that the strains that are unable to grow in the absence of salts lacked the gene encoding the large-conductance mechanosensitive channel (mscL). Genomics analyses revealed genes related to electron transport, sodium, and ABC transporters, together with channels and pores in the genome of strain VN6-2, presumably responsible for a seawater life adaptation. In summary, this study shows genomic traits for saline and pH adaptations identified in the Nocardiospiceae family, possibly associated with strategies to inhabit each of their ecological niches.

Financing: This work was supported by funds of the Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, FONDECYT 1171555 and CONICYT PIA ACT172128 (to BC, MS, RED). FPC acknowledges Conicyt PhD fellowship, CONICYT Gastos Operacionales N° 21171494.

El surgimiento de la variante de interés Lambda (C.37) del SARS-CoV-2 en Perú

Pedro Eduardo Romero Condori^{1,2}, Alejandra Dávila-Barclay¹, Guillermo Salvatierra¹, Luis González¹, Diego Cuicapuza¹, Luis Solís¹, Pool Marcos-Carbajal¹, Janet Huancachoque¹, Lenin Maturrano³, Pablo Tsukayama^{1,4,5}

(1) Universidad Peruana Cayetano Heredia, Laboratorio de Genómica Microbiana, Facultad de Ciencias y Filosofía, Av. Honorio Delgado 430, Lima, Perú

(2) Universidad Peruana Cayetano Heredia, Departamento de Ciencias Biológicas y Fisiológicas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Av. Honorio Delgado 430, Lima, Perú

(3) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria, Av. Circunvalación 28, Lima, Perú

(4) Universidad Peruana Cayetano Heredia, Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Av. Honorio Delgado 430. Lima 15102, Lima, Perú

(5) Wellcome Sanger Institute, Hinxton, Reino Unido

El surgimiento de nuevas variantes de SARS-CoV-2 con características diferentes de transmisión, virulencia o escape inmunológico es un problema actual para controlar la COVID-19, especialmente en países de ingresos bajos y medianos donde la transmisión sigue siendo alta y la vacunación progresa lentamente. Perú ha sido severamente golpeado por la COVID-19. En mayo 2021, se reportó una de las tasas más altas de mortalidad para este país (0.54% de la población total). En marzo 2021, durante nuestros análisis de rutina de las secuencias genómicas disponibles de Perú en la base de datos GISAID identificamos un sub-linaje derivado del linaje B.1.1.1, utilizando la aplicación Nextstrain, la cual utiliza el pipeline auspice para alinear las secuencias genómicas y reconstruir un árbol filogenético calibrado. Inmediatamente, reportamos este nuevo sub-linaje al clasificador de linajes PANGO, el cual lo nombró como C.37. Este sub-linaje fue clasificado en junio 2021 por la Organización Mundial de la Salud como la variante de interés (VOI) Lambda. Lambda ha aumentado su frecuencia rápidamente en Perú hasta convertirse en la variante predominante. Las primeras muestras fueron reportadas en diciembre 2020. Las mutaciones más importantes en el gen Spike son, delección (S:Δ247-253) y mutaciones no sinónimas (G75V, T76I, D614G, L452Q, F490S, T859N). F490S se ha asociado a una susceptibilidad reducida a anticuerpos neutralizantes. L452Q ocurre en la misma posición que L452R reportada en la variante de preocupación (VOC) Delta. Lambda también tiene una delección (ORF1a:Δ3675–3677) presente en otras variantes de preocupación como Alpha, Beta, y Gamma. Además de Perú, observamos la expansión rápida de esta variante en Chile y Argentina. La expansión de Lambda en un contexto de circulación de otras VOC en Sudamérica sugeriría una alta transmisibilidad. Más estudios son necesarios para comprobar si también existe un impacto de estas mutaciones en la respuesta inmune.

Financing: Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (Fondecyt - Perú), contratos 046-2020, 022-2021. PER también es financiado por FONDECYT [número de contrato 034-2019-FONDECYT-BM-INC.INV.]

Analysis of the transmission dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from prisoners from southern Brazil

Caroline Busatto¹, Dienerfer Bierhals¹, Pedro Eduardo Almeida da Silva¹, Lia Gonçalves Possuelo², Ivy Bastos Ramis¹

(1) Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de pós-graduação em ciências da saúde, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

(2) Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC, Programa de pós-graduação em promoção da saúde, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.

Introduction: Tuberculosis (TB) is a serious infectious disease and its control is considered a challenge, especially among populations at higher risk, such as prisoners. **Aims:** To analyze the transmission dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from prisoners from state of Rio Grande do Sul (RS), Brazil. **Methods:** This is a cross-sectional retrospective study that included *M. tuberculosis* isolates from prisoners in state of RS, diagnosed with TB in the period 2015 to 2018. These isolates came from the sample bank of the Central Public Health Laboratory (LACEN) of RS. The prison data of the patients were obtained from the National Prison Information Survey. The molecular characterization of the isolates was performed using the MIRU-VNTR 15 loci technique. **Results:** During the study period, there were 451 *M. tuberculosis* isolates stored at LACEN/RS. Until now, isolates from 328 prisoners have been genotyped. Regarding the evaluation of the genotypic profile, we observed that 43.6% (143/328) of the isolates were found in 34 clusters. The largest cluster contained 26 isolates, where 14 (53.8%) were from individuals that were imprisoned in the Central Penitentiary of Porto Alegre, one of the largest prisons in the state of RS. Another three larger clusters have had 10 to 12 isolates each. Furthermore, 12 clusters have had 3 to 6 isolates and 18 clusters have had 2 isolates each. Therefore, until now, we observed that there is circulation of *M. tuberculosis* strains with the same genotypic profile among prisoners in the state of RS, reflecting the risk of infection in this population and also in the general population. In this context, we emphasize that the implementation of TB prevention and control measures is essential to prevent the spread of *M. tuberculosis* intra and extramural.

Financing: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Edital Pesquisa para o SUS/2017.

Análisis de los de aislados de Mycobacterium tuberculosis circulantes en México.

Claudia Yanet Castro Garay², **Alma Rocio Soriano Herrera**², Elsy J Ramos Gonzalez¹, Jose Antonio Enciso Moreno¹

(1) Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad de Investigación Biomédica de Zacatecas, Int. Alameda no. 45, Centro, Zacatecas, Mexico

(2) Universidad Autonoma de Zacatecas, Ciencias de la Salud, Ciencias Químicas, Carretera Zacatecas - Guadalajara Km 6, Ejido La Escondida, Zacatecas, México

Introducción: La Tuberculosis (TB) es una enfermedad infecto-contagiosa, su agente causal es Mycobacterium tuberculosis (MTB). De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en 201, se estimaron que 10 millones de personas enfermaron de TB en el mundo. Las familias de MTB se distribuyen en linajes asociados a regiones geográficas. Hay 7 linajes de MTB que divergen desde un ancestro común y la caracterización de sus genotipos es utilizada para ver sus patrones de diseminación y su transmisión en brotes epidémicos. **Objetivo:** Genotipificar los linajes de MTB presentes en los Estados de la República Mexicana. **Métodos:** Fueron aisladas 56 cepas de MTB de pacientes con TB en el Laboratorio de Vigilancia e Investigación Epidemiológica de Zacatecas del IMSS. El análisis genotípico en estos aislados fue realizado por secuenciación de genoma completo (WGS). **Resultados:** Un total de 51 cepas de MTB provenientes de 17 estados de la República Mexicana fueron analizadas por Spoligotyping y MIRU's - VNTR in sílico. Se clasificaron en 8 diferentes linajes, siendo el linaje X el más abundante con un 29.41% (15/51) seguido por LAM con un 21.56% (11/51); el linaje H con un 15.68% (8/51), el linaje Ghana con un 9.80% (5/51). También se encontró el linaje U con el 7.84% (4/51); los linajes CAS y S con un 1.96% (1/51) y 2 cepas provenientes del linaje Beijing. El resto de aislados se identificaron como huérfanos (propios de la República Mexicana) representando el 5.88% (3/51). Los aislados analizados muestran patrones diversos sin mostrar casos de transmisión entre ellos. **Conclusión:** Los aislados circulantes en México tienen una amplia diversidad, siendo los más representativos los linajes X y LAM.

Relación entre serotipos de *Salmonella enterica* e integrones de resistencia en la Región Andina utilizando una novedosa herramienta bioinformática: IntFinder

Lilibeth del Cisne Torres Elizalde¹, Karen Loaiza², Marco Larrea-Álvarez¹, David Ortega-Paredes³

(1) Universidad Yachay Tech, Escuela de Ciencias Biológicas e Ingeniería, Hacienda San José, Urcuquí-Imbabura 100650, Ecuador

(2) Education Unit, Life Science Initiative, Quito 170607, Ecuador

(3) Universidad Central del Ecuador, Unidad de Investigación en Enfermedades Transmitidas por Alimentos y Resistencia a los Antimicrobianos (UNIETAR), Facultad de Veterinaria, Quito 170129, Ecuador

Diferentes serotipos de *Salmonella enterica* causan intoxicación alimentaria, bacteriemia e infecciones en piel y tejidos blandos. Los serotipos son reservorios de resistencia por lo que deben ser considerados de importancia en la salud pública y en la producción y sanidad animal. Esta resistencia podría atribuirse a la presencia de integrones de las clases 1, 2 y 3 que otorgan a las bacterias la capacidad de convertirse en multirresistentes debido a la integración de genes de resistencia a antibióticos. En los últimos años, el número de cepas resistentes de *S. enterica* ha aumentado significativamente en todo el mundo, incluso en la Región Andina. Sin embargo, en la Región Andina, la información sobre estas plataformas genéticas es escasa. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue investigar la presencia de integrones de resistencia en bases de datos que contienen secuencias de genoma completo y determinar su relación con los serovares de *S. enterica* en la Región Andina, utilizando la herramienta bioinformática Intfinder. Los genomas completos de *S. enterica* fueron descargados de Enterobase (<http://enterobase.warwick.ac.uk/>). El conjunto de datos consistió en 1688 secuencias de *S. enterica* aisladas de Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela durante los años 1956 a 2021. Para determinar la presencia de integrones de resistencia entre las secuencias de *S. enterica* se utilizó IntFinder (<https://bitbucket.org/genomicepidemiology/intfinder/src/master/>), con una base de datos ampliada (https://figshare.com/articles/dataset/intfinder_db/14096915). En las 1688 secuencias estudiadas, la prevalencia de integrones fue de 40.76% (688/1688), de los cuales el 2,73% (46/1688) fueron de clase 1. El integrón de clase 1 más frecuente fue In167 (33/688), seguido de In573 (7/688), ambos asociados al serovar Typhimurium y aislados de bacteriemia. Otro integrón de clase 1 detectado fue el In54 (6/688), relacionado con el serovar Havana y aislado de pollos. La prevalencia de integrones de clase 2 fue del 38,03% (642/1688), el integrón más frecuente fue el In14 (577/688), asociado con el serovar Infantis y aislado de múltiples fuentes (humanas, animales y ambientales). Adicionalmente, se detectó el integrón de clase 2, In33 (65/688) asociado con el serovar Paratyphi B y vinculado a fuentes alimentarias y de animales. No se detectaron integrones clase 3. En resumen, la presencia de integrones contribuye a la selección de cepas multirresistentes de *S. enterica*; ya que ciertos integrones están asociados con serovares específicos y de relevancia en la salud pública y en la producción de alimentos en la Región Andina. Estos resultados recalcan la necesidad de establecer un programa de vigilancia para rastrear la evolución de estas plataformas genéticas. Además, esta investigación demostró la utilidad y versatilidad de IntFinder como herramienta complementaria para estudiar la resistencia antimicrobiana en la epidemiología genómica.

Financing: No hubo ningún financiamiento externo

Microbiota fúngica asociada a hojas de *Thalassia testudinum* con síntomas de la enfermedad del debilitamiento en dos áreas del Caribe colombiano.

MARIBEB CASTRO-GONZALEZ¹, Diana Isabel Gómez², Laura Sánchez², Andrés Acosta²

(1) Universidad Militar Nueva Granada, Biología Aplicada, Grupo de Investigación HIDROBIA,, Ciencias Básicas y Aplicadas, Km 2 Via Cajicá-Zipacquirá, Cajicá, Colombia

(2) Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras INVEMAR, Programa de Biodiversidad y Ecosistemas Marinos BEM, calle 25, 2-55 Playa Salguero, Santa Marta, Colombia

Introducción: *Thalassia testudinum* es el pasto predominante en el Caribe colombiano y desde el año 2009, se ha realizado monitoreo epidemiológico del estado de condición de las praderas que se han visto afectadas por la enfermedad del debilitamiento causada probablemente por el patógeno *Labyrinthula* sp. En la actualidad se han desarrollado estudios metabolómicos con miras a estudiar las respuestas ante este patógeno, sin embargo, no hay estudios relacionados con la microbiota asociada a las hojas enfermas que permita comparar las comunidades presentes en praderas con diferentes grados de incidencia de la enfermedad. Por lo cual el objetivo de esta investigación fue comparar la diversidad de hongos asociados a hojas que presentan síntomas de la enfermedad en dos praderas de la región Caribe y analizar su variación al usar dos métodos de extracción de ADN. Metodología: Se tomaron muestras de vástagos completos con síntomas de la enfermedad en praderas de MacBeen Lagoon en Isla Providencia y en la Bahía de Chenque en el parque nacional natural Tayrona. En laboratorio se cuantificó la severidad de la enfermedad presente en las hojas, se retiraron las epífitas y se secaron las hojas a temperatura ambiente para luego realizar la extracción de ADN comparando el método tradicional de fenol cloroformo con el kit de extracción Invisorb® Spin Plant Mini Kit (Invitex Molecular GmbH). La cantidad y calidad del ADN fue estimada con equipo nanodrop. Para el análisis metataxonómico se usó el marcador molecular ITS con los primers ITS3F e ITS4R. El secuenciamiento se realizó en la plataforma MiSeq Illumina. Los análisis de calidad de secuencias y clasificación se desarrollaron con la plataforma MOTHUR v.1.39.5 y la base de datos UNITE (versión 04.02.2020). Resultados: La extracción de ADN con el Kit arrojó mejores resultados en cantidad (hasta 16.45 ng/μl) y calidad (relación 260/280 = 1.97) de ADN, así como mayor riqueza y diversidad de OTUs de hongos en pastos marinos de Providencia en comparación con el método tradicional. En las dos praderas predominaron secuencias que no pudieron ser clasificadas (9452 secuencias), seguidas por secuencias de los filas Ascomycotas (5721 secuencias) principalmente del orden Saccharomycetales y del filum Basidiomycotas (472 secuencias) con dominancia del orden Sporidiobolales. En las praderas de Providencia se detectó mayor severidad de la enfermedad (35.8%), mayores índices de diversidad de OTUs (1/D Simpson = 8.66) y de Equidad (Shannon = 3.1) en comparación con lo registrado para praderas en Chenque (Severidad = 27.6%, diversidad 1/D Simpson = 5.25, y Equidad Shannon = 2.44). Los resultados indican que hay una alta riqueza de OTUs que no han sido previamente registrados en las bases de datos de ITS para hongos y que hacen parte del microbioma de los pastos marinos lo que representa una diversidad fúngica novedosa que debe ser estudiada en mayor detalle para determinar si podrían ser usados como herramientas de control biológico de la enfermedad del debilitamiento que afecta las praderas en el Caribe Colombiano.

Financing: Esta investigación es un producto derivado del proyecto INV-CIAS 2947 financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Militar Nueva Granada y el INVEMAR- Vigencia 2019.

BÚSQUEDA DE PATÓGENOS VIRALES Y CARACTERIZACIÓN LABORATORIAL DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE PACIENTES CON SOSPECHA DE TRASTORNOS NEUROLÓGICOS

Oliver Caballero¹, Fátima Cardozo², Jesse J. Waggoner³, Aníbal Espínola⁴, Cynthia Bernal¹, César Cantero¹, Yvalena Guillén¹, María Eugenia Acosta¹, Laura Aria¹, Malvina Páez², Laura Mendoza², Martha Von Horoch⁵, Sandra Cabral⁵, Aurelia Torres⁶, María Cecilia Sánchez⁷, Fátima Macchi¹, Alexandra Mercado¹, Alejandra Rojas Segovia¹

(1) Instituto de Investigaciones de Ciencias de la Salud, Departamento de Producción, San Lorenzo, Paraguay

(2) Instituto de Investigaciones de Ciencias de la Salud, Departamento de Salud Pública, San Lorenzo, Paraguay

(3) Universidad de Emory, División de Enfermedades Infecciosas Departamento de Medicina, Escuela de Medicina, Atlanta, E.E.U.U

(4) Instituto de Investigaciones de Ciencias de la Salud, Departamento de Patología, San Lorenzo, Paraguay

(5) Hospital Central del Instituto de Previsión Social, Departamento de Epidemiología, Asunción, Paraguay

(6) Hospital Central del Instituto de Previsión Social, Departamento de Laboratorio de Análisis Clínicos, Asunción, Paraguay

(7) Hospital Central Del Instituto de Previsión Social, Laboratorio de Urgencias, Hormonas y Marcadores Tumorales, Asunción, Paraguay

Las infecciones virales del sistema nervioso central constituyen un problema importante para la salud pública en Paraguay. En el país, en un gran porcentaje de casos sospechosos de infección neurológica viral, el agente etiológico es desconocido. El objetivo del estudio fue buscar patógenos virales y caracterizar laboratorialmente muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con sospecha de trastornos neurológicos. Se realizó un estudio observacional descriptivo de corte transversal. Se incluyeron 127 muestras de LCR de pacientes con sospecha de infecciones virales del Hospital Central de IPS de mayo 2019 a marzo 2021. Se realizó una clasificación según la sospecha del diagnóstico clínico. Así, se incluyeron casos sospechosos de meningitis (21), encefalitis (31), meningoencefalitis (8), neuroinfección (7), síndrome confusional (14), síndrome convulsivo (20), síndrome Guillain-Barré (SGB) (18), síndrome febril (3), neuritis óptica (4) y dengue con signos de alarma (DCSA) (1). El total de muestras fue analizado mediante ensayos de PCR en tiempo real para la detección de los virus de Zika (ZIKV), chikungunya (CHIKV), dengue (DENV), West Nile (WNV), Encefalitis Equina Venezolana (VEEV) y Encefalitis de San Luis (SLEV). De las 127 muestras, 81 fueron además analizadas para la detección de 11 agentes virales: adenovirus humano (HAdV), citomegalovirus humano (HCMV), virus Epstein-Barr (EBV), virus herpes simple 1 y 2 (HSV-1, HSV-2), virus varicela zoster (VZV), enterovirus (EV), parechovirus humano (HPeV), herpes virus humano 6 y 7 (HHV-6 y HHV-7) y parvovirus B19 humano (HPV-B19), con un kit comercial (Neuro 9, Fast Track Diagnostics). Entre los 127 participantes se observó una mediana de edad de 33,5 RIQ25%-75% 11-61 años. No se detectaron casos de DENV, ZIKV, CHIKV, WNV, VEEV y SLEV en las muestras analizadas. Sin embargo, fueron detectados otros agentes virales en 12/81 (15%) de las muestras evaluadas, entre ellos, 3/12 fueron EV, 2/12 VEB, 2/12 VZV, 1/12 HPV-B19 y 4/12 HAdV. Con respecto a la clasificación de acuerdo a la sospecha clínica, fue posible detectar: 2 casos de EV y 3 de HAdV en pacientes con sospecha de encefalitis; 1 caso de EV, HAdV y VZV en pacientes sospechosos de meningitis; 1 caso de VZV y EBV en pacientes con sospecha de meningoencefalitis; 1 caso de HPV-B19 en un paciente con sospecha de Síndrome convulsivo; y 1 caso de EBV en un paciente con sospecha de SGB. En la mayoría de las muestras en las cuales se detectó un agente viral se observó pleocitosis con predominio mononuclear y concentración de glucosa normal. En el 50% de las muestras de LCR se observó una concentración de proteínas elevadas y un aspecto límpido. Con los resultados obtenidos, se destaca la dificultad de identificar la causa de los trastornos neurológicos. Sin embargo, a través de este estudio se buscó aportar conocimientos acerca de posibles agentes causantes de trastornos neurológicos y la caracterización laboratorial en casos con sospecha de infecciones neurológicas causadas por virus, a fin de colaborar con la vigilancia y control de las mismas aportando herramientas que permitan ampliar el diagnóstico de infecciones virales neurológicas.

Financing: El proyecto fue financiado por los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de EEUU, 1R21AI146443-01 (A.R., J.W.)

Análisis de casos de dengue según gravedad, Paraguay (2018-2020)

Cynthia Bernal¹, Alejandra Rojas¹, Jesse J. Waggoner², Oliver Caballero¹, César Cantero¹, Laura Mendoza¹, Ma. Eugenia Acosta¹, Laura Aria¹, Patricia Luraschi³, Marta Von-Horoch³, Yvalena de Guillén¹, Malvina Páez¹, Sandra Cabral³, Milva Ibarrola⁵, Aurelia Torres⁴, María Cecilia Sánchez⁶, Fátima Cardozo¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Paraguay

(2) Universidad de Emory, División de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Medicina, Atlanta, EE.UU.

(3) Hospital Central del Instituto de Previsión Social, Departamento de Epidemiología, Asunción, Paraguay

(4) Hospital Central del Instituto de Previsión Social (IPS), Departamento de Laboratorio de Análisis Clínicos, Asunción, Paraguay

(5) Hospital Central del Instituto de Previsión Social, Departamento de Hematología, Asunción, Paraguay

(6) Hospital Central del Instituto de Previsión Social, Laboratorio de Urgencias, Hormonas y Marcadores Tumorales, Asunción, Paraguay

El dengue es causado por cualquiera de los tipos de virus del dengue (DENV-1 al 4) y es la enfermedad transmitida por vectores más importante en nuestra región. La infección puede ser asintomática o presentarse con una variedad de síntomas que pueden evolucionar a dengue grave (DG), con una alta letalidad, por lo que es importante realizar un seguimiento adecuado de modo a disminuir estos casos. El objetivo de este estudio fue caracterizar casos de dengue clasificados por gravedad de acuerdo con la guía de manejo clínico de la OMS publicada en 2009. Para ello se realizó un estudio transversal descriptivo. Fueron incluidos 145 participantes con dengue de hasta 8 días de evolución, del periodo 2018 al 2020. Se clasificaron en tres grupos: dengue sin signos de alarma (DSSA, n=55), dengue con signos de alarma (DCSA, n=67) y DG (n=23). En los tres puntos de salud donde fueron atendidos los participantes se colectaron datos clínicos, demográficos y muestras de suero y/o plasma. La mediana de edad fue de 34 años (22-52 años) y 60% fueron mujeres. Los tipos detectados fueron DENV-4 (77%), DENV-1 (16%) y DENV-2 (7%) y la prevalencia de anticuerpos IgG anti-DENV fue de 88%. Se registraron 22 decesos entre los pacientes con DG. No se observó diferencia estadísticamente significativa al comparar los días de síntomas entre los pacientes con DSSA, DCSA y DG, mientras que la frecuencia de comorbilidades y la mediana de edad fueron significativamente mayores en el grupo DG ($p \leq 0,0003$). La fiebre fue el síntoma más común en los tres grupos (>92%), mientras que las alteraciones de la conciencia y derrame de líquidos solo se registraron en DCSA y DG. No se encontraron diferencias significativas entre los promedios de carga viral entre los grupos. Respecto a las variables laboratoriales, el recuento de plaquetas fue significativamente menor en los pacientes con DG ($p \leq 0,0001$). Al comparar el grupo DG con los de DCSA y DSSA, se encontraron niveles significativamente mayores de recuento de leucocitos ($p=0,0017$ y $p=0,0007$ para DSSA vs. DG y DCSA vs. DG, respectivamente), creatinina ($p \leq 0,0002$), urea ($p < 0,0001$) y bilirrubina total ($p=0,0054$ para DG vs. DSSA y $p=0,0021$ para DG vs. DCSA). No se encontraron diferencias significativas al analizar los valores de linfocitos, eritrocitos, hematocrito, hemoglobina y GPT. De acuerdo con los resultados presentados y considerando el aspecto multifactorial de las manifestaciones clínicas del dengue, es importante combinar los datos disponibles sobre las características del paciente, sintomatología y hallazgos laboratoriales a fin de lograr un diagnóstico preciso y disminuir los cuadros severos de dengue.

Financing: CONACYT a través del Programa PROCENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e Investigación – FEEI del FONACIDE (PINV18-1295). Doris Duke Charitable Foundation Clinical Scientist Development Award (2019089, JJW).

Microplastics associated to bacterial communities from surface seawater of the Northern Chilean Patagonia

Patricia Aguila Torres¹, Jonathan Maldonado², Alexis Gaete³, Richard Miranda¹, Mauricio González³

(1) Universidad Austral, Puerto Montt, Chile

(2) Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

(3) INTA-Universidad de Chile, Santiago, Chile

The accumulation of microplastics in the world's ocean and coastlines is an important environmental pollution problem. In this study, we determined the plastisphere using metagenomic data of microplastics collected at Detif and Lelbun, Chiloé, Los Lagos Region and Chaihuin, Los ríos Region, from Northern Chilean Patagonia. To analyze microplastics we used Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). Later, these microplastics particles were analyzed with scanning electron microscopy (SEM) and next-generation sequencing to characterize the microplastics attached to microbial communities. The structure and composition of plastisphere communities varied among the locations but these presented a core. Microbial communities' diversity of microplastics was higher than those present in seawater. Sequencing analysis revealed that plastisphere microbial communities on all microplastics samples had the most abundance of Proteobacteria, Cyanobacteria and Bacteroidetes phylum. In general, microbial communities showed different abundance patterns in the microplastics. Our results showed the diverse and heterogeneous microbial assemblages that occur on microplastics helping to know the plastisphere ecology.

Financing: Proyecto VT-UACH 2019-03

DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS

Metabolitos secundarios de plantas medicinales en el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos

Jorge Luis Mejía-Méndez¹, Eugenio Sánchez-Arreola¹

(1) Universidad de Las Américas Puebla, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Escuela de Ciencias, Santa Catarina Mártir Cholula, 72810., San Andrés Cholula, Puebla, México

Los metabolitos secundarios (SMs, por sus siglas en inglés) son compuestos biológicamente activos distribuidos en animales, microorganismos y plantas. Históricamente, las plantas medicinales han sido reconocidas por sus propiedades terapéuticas, pues a partir de ellas se han aislado múltiples sustancias de interés farmacológico, como, por ejemplo: la identificación del glicósido cardiotónico digoxina en la planta *Digitalis purpurea* en 1700, seguido de la identificación del alcaloide morfina en la planta *Papaver somniferum* en 1803, así como su formulación en heroína y codeína en 1870. Por otra parte, en 1960 se identificó el compuesto anticancerígeno taxol en la planta *Taxus brevifolia*. De igual manera, desde 1970, se ha explorado SMs de plantas medicinales en el desarrollo de fármacos antimicrobianos. El padecimiento de enfermedades transmisibles, como lo son aquellas ocasionadas por microorganismos (p.e. bacterias, hongos, virus y parásitos), afecta desproporcionalmente la calidad de vida de comunidades con recursos limitados. Adicionalmente, la ineffectividad y pobre innovación de los tratamientos actualmente administrados, son factores que también repercuten en las poblaciones afectadas. Por tanto, en este trabajo se consultaron artículos originales (no mayores a 6 años) en los repositorios PubMed, Google Scholar, Scopus y Web of Science, sobre la actividad antimicrobiana de SMs de plantas medicinales. Consecuentemente, presentamos estrategias nanobiotecnológicas para incrementar su eficacia tanto in vitro como in vivo. Finalmente, discutimos avances recientes sobre su implementación en el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos.

Financing: Ninguno.

Obtención de un bacteriófago recombinante transportador de un péptido inmunogénico del virus de la fiebre aftosa

Emilio Mendez Scolari Mendez Scolari¹, Patricia Langjahr¹, Yenny Montalbetti², **Pablo Sotelo**¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas, Campus universitario, San Lorenzo

Introducción La vacunación es una de las principales formas de combatir la fiebre aftosa, enfermedad causada por el virus de la fiebre aftosa (VFA) y que afecta a gran parte del ganado mundial. Sin embargo, las vacunas actuales presentan algunas limitaciones, como dificultad de producción y purificación, termolabilidad y corta inmunidad. Ante estas limitaciones, la utilización de bacteriófagos filamentosos como vacuna recombinante constituye una alternativa debido a su alta inmunogenicidad, fácil producción y purificación, resistencia hasta temperaturas de 63 °C, entre otras. En este aspecto, el objetivo de este trabajo fue producir fagos filamentosos recombinantes (M13-GHL) que expresen, acoplado a la proteína pVIII de la cápside viral, el epítipo inmunogénico GHL (GH loop) de la proteína VP1 y evaluar la respuesta inmune en ratones. El epítipo GHL de la proteína VP1 del VFA se caracteriza por su capacidad de generar anticuerpos neutralizantes, ya que posee el motivo RGD responsable de la unión de la VFA a su célula huésped. **Metodología** Se diseñó un gen sintético que posee la secuencia codificante del epítipo GHL fusionada a la secuencia que codifica para la proteína pVIII del fago M13. El mismo fue introducido en un vector plasmídico que posteriormente permitió la expresión de la proteína quimérica en la superficie del fago a través de la tecnología Phage Display. La presencia del epítipo GHL en la partícula viral fue analizada por ELISA y Dot Blot. Ratones Suizos Albinos fueron inoculados con 1×10^{12} fagos M13-GHL vía intraperitoneal, 3 veces cada 2 semanas. La respuesta humoral fue analizada por ELISA. La respuesta celular se determinó evaluando la proliferación de esplenocitos de ratones inmunizados, cuando son inducidos con antígeno vacunal (AgV). **Resultados** La producción del fago recombinantes M13-GHL y la expresión del péptido GHL en la superficie del mismo acoplado a la proteína pVIII fue exitosa. La inmunización de ratones con M13-GHL logró una respuesta de anticuerpos IgG total anti-VFA significativamente mayor comparada con la respuesta generada por el fago silvestre M13, confirmando que el péptido GHL expuesto en su superficie fue reconocido por el sistema inmune. Esta respuesta se caracterizó por un predominio de anticuerpos de isotipo IgG1 por sobre IgG2a. La inducción de esplenocitos de ratones inmunizados con el fago M13-GHL y con la vacuna comercial, utilizando AgV como inductor, produjo una proliferación significativamente mayor comparado con los ratones inmunizados con el vehículo o con el fago silvestre M13. Esta proliferación fue similar entre los ratones inmunizados con M13-GHL y con la vacuna comercial. **Conclusión** La respuesta de anticuerpos obtenida con los fagos recombinantes M13-GHL se caracterizó por un predominio de anticuerpos IgG1 por sobre IgG2a, característico de una respuesta del tipo Th2. La respuesta celular fue evidenciada por una proliferación significativa de esplenocitos de ratones inmunizados con M13-GHL, cuando son re estimulados con antígenos del VFA. Estos resultados demuestran el potencial uso de fago recombinante para el desarrollo de vacunas anti-VFA.

Financing: Este proyecto fue financiado por el CONACYT a través del Programa PROCIENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e investigación EEL del FONACIDE" Proyecto PINV15-224

Triagem de fungos de solo com potencial de biotransformação do composto natural β -cariofileno

Fernanda Zantedeschi Rodrigues¹, Erika Izumi¹, Jociani Ascari¹

(1) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Licenciatura em Ciências Biológicas, Rua Cerejeira, sem número, Santa Helena, Brazil

Microbial biotransformation of drugs and active natural compounds can be applied to modify chemical molecules of interest, enabling the generation of new compounds, increasing their pharmacological potential and reducing their toxicity. The natural compound β -caryophyllene, found in plants, is known to have diverse biological activity, including antimicrobial activity. This study aimed to select soil fungi capable of biotransforming the natural compound β -caryophyllene. For the isolation of the fungi, two culture media were used, a complex medium and the Czapeck medium, with reduced carbon source, the latter containing the compound β -caryophyllene. Litter and soil samples were collected, homogenized with sterile distilled water, and aliquots were seeded in the aforementioned media. The plates were incubated at 27°C for up to 7 days, and the filamentous fungi were picked and isolated for the continuation of the study. The screening of potential for biotransformation was performed in Czapeck solid medium, with reduced carbon source, in petri dishes, containing β -caryophyllene at a concentration of 300 $\mu\text{g/mL}$. Fungi isolates were seeded on the surface and the plates were incubated for 14 days at 27°C. Control plates were prepared, with a control containing only the compound, without microbial inoculum, and another control containing the fungus, but without the compound. After the incubation period, the solid medium was cut into smaller fragments and placed in an erlenmeyer flask together with 20 mL of ethyl acetate to extract the chemical compounds. After homogenization for 20 minutes, the solvent was collected and evaporated, originating the crude extract. The extract was evaluated for the possibility of containing new compounds through thin layer chromatography. Four isolates of filamentous fungi were obtained and one of them biotransformed the test compound β -caryophyllene, generating at least two different molecules, according to observations of thin layer chromatography. Czapeck culture medium, with reduced carbon source and containing the test compound, proved to be more effective for the selection of isolates with biotransformation capacity.

Atividade antibacteriana de nanopartículas de zeína revestidas com quitosana contendo ceftazidima contra cepas de *Escherichia coli*

Luís André de Almeida Campos^{1,2}, Azael Francisco Silva Neto¹, Nereide Stela Santos Magalhães¹, Isabella Macário Ferro Cavalcanti^{2,3}

(1) Federal University of Pernambuco, Laboratory of Immunopathology Keizo Asami, Sector of Biochemistry, Av. Prof. Moraes Rego - Cidade Universitária, Recife, Brazil

(2) Federal University of Pernambuco, Laboratory of Immunopathology Keizo Asami, Sector of Clinical Microbiology, Av. Prof. Moraes Rego - Cidade Universitária, Recife, Brazil

(3) Federal University of Pernambuco, Academic Center of Vitória de Santo Antão, Laboratory of Microbiology and Immunology, R. Alto do Reservatório - Alto José Leal, Vitória de Santo Antão, Brazil

Escherichia coli is a bacterium of the order Enterobacteriales, a facultative anaerobic rod, commensal of the gastrointestinal tract of mammals, integrating the human intestinal microbiota, but it also presents pathogenic strains isolated from patients with infections. Pathogenic strains of *E. coli* cause serious intestinal infections through the production of enterotoxins, promoting diarrhoea, Crohn's disease, enteric and haemorrhagic syndromes, and outbreaks of water-borne and foodborne illnesses. These infections may be associated with another underlying disease, injury, or hospitalization in intensive care units with specific and difficult-to-treat clinical conditions, causing morbidity and mortality and medical care expenditure. To treat these infections, β -lactams such as ceftazidime (CAZ) can be used, however, for intestinal infections the use of this drug becomes limited, as CAZ is sensitive to degradation by digestive enzymes and changes in gastric pH. To overcome these limitations, encapsulating CAZ in chitosan-coated zein nanoparticles becomes a promising alternative in the use of oral particles for controlled release of antimicrobials to treat intestinal infections caused by *E. coli* strains. Thus, this study aimed to evaluate the antibacterial activity of chitosan-coated zein nanoparticles encapsulated CAZ (CAZ-ZNP-CH). The CAZ-ZNP-CH were prepared by the method of nanoprecipitation and characterized by measuring the particle size (\emptyset), polydispersity index (PDI), zeta potential (ξ), pH and encapsulation efficiency (EE%). The determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of CAZ and CAZ-ZNP-CH against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* NCTC 13846 and *Escherichia coli* H100407 strains was performed by the broth microdilution method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute. The minimum bactericidal concentration (MBC) was determined from the well in which the MIC showed no growth bacteria, which an aliquot was seeded in Müller Hinton agar (MHA) and incubated at 35 ± 2 °C for 24 h. After this period, MBC was determined as the lowest concentration in which there is no microbial growth. The CAZ-ZNP-CH presented \emptyset of 314.63 nm, PDI of 0.220, ξ of $+39.2 \pm 0.7$ mV, pH 4.31 and EE% was 87.28%. The MIC of CAZ and CAZ-ZNP-CH were 0.390 $\mu\text{g/ml}$ and 0.097 $\mu\text{g/ml}$; 0.390 $\mu\text{g/ml}$ and 0.390 $\mu\text{g/ml}$; and 25 $\mu\text{g/ml}$ and 5.45 $\mu\text{g/ml}$ for *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* NCTC 13846 and *E. coli* H100407, respectively. O MBC de CAZ e CAZ-ZNP-CH foi de 1,56 $\mu\text{g/ml}$ e 0,390 $\mu\text{g/ml}$; 6,25 $\mu\text{g/ml}$ e 3,12 $\mu\text{g/ml}$; e 50 $\mu\text{g/ml}$ e 10,91 $\mu\text{g/ml}$ para *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* NCTC 13846 e *E. coli* H100407, respectivamente. A ceftazidima encapsulada em nanopartículas de zeína revestidas com quitosana tem maior potencial antibacteriano, indicando que essa nanoformulação pode ser administrada por via oral e tem potencial terapêutico para o tratamento de infecções intestinais causadas por cepas de *E. coli*.

Financing: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Expresión heteróloga y caracterización de los componentes NImA y NImB de la bacteriocina mutacina IV producida por *Streptococcus mutans* UA159

Guillermo Wiese¹, Samantha Gonzalez¹, Camila Manzano², Piedad Cortés², **Nancy Calisto Ulloa**², Laura Navarro², Gino Corsini²

(1) Corbio-Q, Área innovación y desarrollo, I+D+I, Santiago, Chile

(2) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Llano Subercaseaux 2801 Piso 5, Santiago, Chile

Streptococcus mutans es una bacteria Gram positivo que se encuentra en la cavidad oral, siendo uno de los principales patógenos asociados a la cariogénesis. Posee variadas cualidades que le permiten establecerse en la cavidad oral, entre ellas encontramos su gran capacidad de adhesión, formación de biopelícula y síntesis de bacteriocinas, siendo esta última la más atractiva desde el punto de vista biotecnológico. Estas bacteriocinas producidas por *S. mutans* son denominadas mutacinas y han sido clasificadas según su composición aminoacídica en mutacinas lantibióticas y no-lantibióticas. Entre las mutacinas no lantibióticas, encontramos a la mutacina IV, codificada por el operón *nlm*, la cual posee 2 genes estructurales denominados *nlmA* y *nlmB*. El rol de las proteínas *NImA* y *NImB* y su actividad antibacteriana no están claramente definidos, ya que antecedentes del año 2005 indicarían que solo *NImA* es el responsable de la actividad. Pero en 2008, se hace referencia a que ambas proteínas son necesarias para la funcionalidad de la mutacina IV. El objetivo de este trabajo fue caracterizar cada una de las proteínas que conforman la mutacina IV, por ello, se realizó la expresión de forma heteróloga de las proteínas *NImA* y *NImB*, mediante el sistema Probac® de manera independiente. Posteriormente se evaluó la actividad antibacteriana de las proteínas *NImA* y *NImB* de forma individual frente a la cepa indicadora *Streptococcus salivarius*. Adicionalmente se realizaron ensayos de estabilidad a pH, temperatura, solventes y estudio de espectro de acción sobre un panel de bacterias Gram positivo y Gram negativo. Se concluyó que tanto la proteína *NImA* como *NImB*, presentan actividad por separado sobre la cepa indicadora. Adicionalmente se encontró que son estables a temperatura, pH y tienen un espectro de acción acotado a bacterias Gram positivo.

Efecto antimicrobiano del veneno de la serpiente *Bothrops atrox* y sus fracciones (fosfolipasa A2 Lys49 y metaloproteinasa Batx-I) sobre bacterias de interés clínico.

Santiago Zapata¹, Lyz J. Gomez-Rave¹, Jaime A. Pereañez², Juan D. León¹, Adriana X. Muñoz-Bravo¹

(1) Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Grupo de Investigación Biociencias, Ciencias de la Salud, Carrera 78 #65 – 46, Medellín, Colombia

(2) Universidad de Antioquia, Programa de Ofidismo/Escorpionismo, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia

La resistencia bacteriana se ha presentado como una relevante problemática epidemiológica a nivel mundial en los últimos años, afectando severamente al sector hospitalario al reducir el repertorio terapéutico frente a estos patógenos; por tal motivo, es imprescindible la búsqueda y desarrollo de nuevas sustancias con potencial antimicrobiano. El veneno de las serpientes ha demostrado ser una fuente de moléculas bioactivas en las cuales se encuentran metaloproteinasas y fosfolipasas A2 (PLA2), las cuales han demostrado ser proteínas de gran interés debido a sus propiedades antimicrobianas y enzimáticas. El presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto antimicrobiano del veneno completo de la serpiente *Bothrops atrox* y dos de sus toxinas (Batx-I y PLA2 Lys49) sobre bacterias de importancia clínica. Se evaluó la capacidad antimicrobiana del veneno total, metaloproteinasa Batx-I y PLA2 Lys49 sobre cuatro aislamientos bacterianos: *Escherichia coli* ATCC 25922, un aislamiento sensible y resistente (ATCC 1705) de *Klebsiella pneumoniae*, y un aislamiento de *Staphylococcus aureus*. Una vez extraído el veneno, fue liofilizado y fraccionado. Las toxinas Batx-I y PLA2 Lys49 fueron aisladas del veneno mediante HPLC en fase reversa, así mismo se verificó el grado de pureza a través del mismo método. Para determinar la susceptibilidad antimicrobiana se empleó el método de difusión en disco con algunas modificaciones, la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración bactericida mínima (CBM). Tanto Batx-I como PLA2 fueron incapaces de inhibir el crecimiento de los microorganismos evaluados; sin embargo, el veneno total fue capaz de inhibir en distintos niveles el crecimiento de los cuatro aislamientos, mostrando una significativa correlación positiva asociada con la concentración de veneno utilizado y su efecto inhibitorio. *S. aureus* fue el microorganismo con el mayor grado de susceptibilidad con una CMI y CBM = 200 µg/ml. Asimismo, no se observaron diferencias significativas en cuanto al efecto inhibitorio del veneno frente a los microorganismos Gram-negativos ($p > 0.05$). En conclusión, el veneno completo de *B. atrox* demostró tener actividad inhibitoria frente a bacterias Gram-positivas (*S. aureus*) y Gram-negativas (*E. coli* y *K. pneumoniae*). No se evidenció efecto antimicrobiano de las fracciones aisladas PLA2 Lys49 y Batx-I en este estudio.

Bacterias antárticas productoras de compuestos antimicrobianos de tipo bacteriocinas

Nancy Calisto Ulloa^{1,2}, Laura Navarro¹, Cristina Ubeda³, Ana Gutiérrez¹, Manuel Gidekel¹, Claudio Gómez², Paz Orellana¹, Gino Corsini¹

(1) Universidad Autónoma de Chile, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Llano Subercaseaux 2801 Piso 5, Santiago, Chile

(2) Universidad de Magallanes, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Avenida Bulnes 01855, Punta Arenas, Chile

(3) Universidad de Sevilla, Área de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Sevilla, España

La bioprospección de entornos naturales ha permitido la identificación, producción y comercialización de la mayoría de los antibióticos existentes y continúa proporcionando la base para el desarrollo de nuevos fármacos. Los productos naturales, predominantemente de bacterias y hongos, siguen siendo las principales fuentes estudiadas para descubrir nuevos antibióticos, en este contexto la exploración de hábitats poco comunes se ha vuelto importante para descubrir nuevos microorganismos que generen metabolitos antimicrobianos, es por esto, que los microorganismos que viven en entornos extremos pueden ser puntos de partida prometedores para encontrar nuevos compuestos antimicrobianos. Entre los ambientes extremos, la Antártica ha demostrado ser una rica fuente de especies microbianas con potencial para diversas aplicaciones, incluido el descubrimiento de compuestos antimicrobianos. Entre los metabolitos que pueden producir las bacterias se encuentran las bacteriocinas, péptidos y polipéptidos antimicrobianos sintetizados ribosomalmente, que pueden matar o inhibir el crecimiento de otras bacterias y para los cuales las bacterias productoras cuentan con un mecanismo de inmunidad específico. Las bacteriocinas tienen muchas propiedades que las sugieren como alternativas viables a los antibióticos, entre los que se incluyen su potente actividad, baja toxicidad y la disponibilidad de péptidos de amplio y reducido espectro. En el presente trabajo, a partir de 15 muestras de suelo antártico, 6 correspondientes a suelo de la isla Rey Jorge, 6 de la isla Greenwich y 3 de rizósfera de *Deschampsia antarctica* Desv., se obtuvieron 506 aislados bacterianos. A cada aislado se le evaluó la capacidad de inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* obteniéndose como resultado, 27 aislados con capacidad de inhibir el crecimiento de por lo menos una de las bacterias patógenas empleadas como referencia. Se identificaron 19 aislados con capacidad de inhibir solo el crecimiento de *S. aureus*, 2 con capacidad de inhibir solo el crecimiento de *E. coli* y 6 con la capacidad de inhibir el crecimiento de ambas bacterias. Posteriormente, los sobrenadantes de cultivo, de los 27 aislados que presentaron actividad antimicrobiana, se concentraron por evaporación a 80°C y se obtuvieron 8 concentrados con actividad antimicrobiana, indicando que existen 8 aislados bacterianos que secretan moléculas termoestables con actividad antimicrobiana. A estos aislados, se le realizó tinción de Gram, obtención de imágenes de microscopía, perfil de susceptibilidad a antibióticos, ampliación del perfil de inhibición del crecimiento de bacterias patógenas y finger printing mediante reacción de PCR con partidores arbitrarios. Adicionalmente, utilizando membranas de diálisis, con poro de exclusión de 10 kDa y observando si el efecto inhibitorio de los aislados difunde a través de la membrana, se determinó que los 8 aislados bacterianos secretan compuestos antimicrobianos termoestables que tienen un tamaño inferior a 10 kDa. Los resultados sugieren fuertemente, que las moléculas termoestables secretados por los 8 aislados bacterianos antárticos, que presentan actividad antimicrobiana, podrían corresponder a compuestos del tipo bacteriocinas y por lo tanto podrían ser potenciales candidatos a nuevas moléculas bioactivas para su uso en biomedicina como nuevos compuestos antibacterianos, en un escenario de pérdida de la eficacia de los antibióticos actuales en el tratamiento de algunas infecciones.

Financing: Financiación: Dirección de Investigación, VRIP, Universidad Autónoma de Chile, Proyectos DIUA 189-2020 y DIUA181-2020

Extractos metanólicos y fracciones de tres especies del género *Baccharis* reducen la respuesta de células monocíticas frente a lipopolisacárido de *Escherichia coli*.

Christa Burgos¹, Patricia Langjahr¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Campus UNA, San Lorenzo, Paraguay

Introducción Las infecciones causan daño, no sólo debido a la virulencia del agente etiológico, sino también por las respuestas que se desencadenan en el huésped. Las células del sistema inmune reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) como el lipopolisacárido (LPS), principal componente de la membrana externa de bacterias gram negativas tales como *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. El reconocimiento del LPS por monocitos conduce a la activación celular, llevando a la producción de CD14 soluble, considerado como un marcador de activación celular. Además, se producen citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina (IL)-1 β , IL-6 e IL-10 y quimocinas como la proteína quimotáctica de monocitos 1 (MCP-1), las cuales actúan como mediadores de inflamación. Los monocitos y sus mediadores inflamatorios participan en la patogénesis de múltiples enfermedades. En casos como sepsis y shock séptico, la sobreproducción de estas citoquinas inflamatorias por células monocíticas lleva a daño a tejidos, fallo de órganos y en muchos casos, la muerte del paciente. Tratamientos que actúen sobre este blanco celular aún son necesarios para el manejo terapéutico. Los extractos y compuestos derivados de plantas podrían representar una alternativa terapéutica. Las plantas del género *Baccharis* (jagueté ka'a) son muy utilizadas en la medicina tradicional sudamericana debido a que se le atribuyen propiedades para el tratamiento de diversas dolencias, incluyendo infecciones e inflamación. **Objetivo** En este trabajo se evaluó el efecto de los extractos metanólicos y fracciones de las especies *B. punctulata*, *B. trimera* y *B. notoserigila* sobre la respuesta inmune inducida por LPS en monocitos humanos. **Metodología** Células de la línea THP-1 tipo monocito se estimularon con cada uno de los extractos metanólicos en estudio y sus respectivas fracciones, en presencia o ausencia de LPS de *E. coli*. El efecto de los extractos sobre la viabilidad celular se determinó mediante el método colorimétrico de MTT. Se evaluó el efecto sobre la producción de moléculas inflamatorias producidas por los monocitos. Así, la concentración de CD14 soluble se determinó en sobrenadante de cultivo mediante ELISA y el nivel de expresión de mRNA de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 y MCP-1 por RT-qPCR y el método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$. **Resultados** Los extractos de las tres especies redujeron la concentración de CD14 soluble producida en respuesta a LPS. El extracto metanólico de *B. punctulata* disminuyó los niveles de IL-6 y MCP-1 inducida por LPS, siendo responsables de este efecto las fracciones diclorometánica y butanólica. El extracto de *B. trimera* disminuyó los niveles de IL-1 β , IL-6 e IL-10 inducida por LPS. Así también, se observó una reducción de los niveles de expresión inducida por LPS de TNF- α , IL-6, IL-10 y MCP-1 en células tratadas con el extracto de *B. notoserigila*, siendo responsable de ello la fracción hexánica, principalmente. **Conclusión** Los extractos de *B. trimera*, *B. notoserigila* y *B. punctulata* poseen actividad anti-inflamatoria inhibiendo la respuesta inducida por LPS de *E. coli* en monocitos humanos, demostrando potencial terapéutico. **Palabras clave:** Monocitos, *Baccharis*, inflamación, infección

Differential antibacterial activity of *Cinnamomum* spp. essential oils against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

Antonio Augusto Ignacio¹, Katiane Pompermayer¹, Jociani Ascari¹, Dejjane Santos Alves¹, Erika Izumi¹
(1) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Brazil

The genus *Cinnamomum* comprises more than three hundred species, many of which have been used since ancient times, mainly for their aromatic, flavoring and pharmacological properties. *Staphylococcus aureus* is a human pathogenic bacterium and the emergence of resistant strains has been growing in recent years, as an example, methicillin resistant strains. The aim of the study was to evaluate the bactericidal effect of essential oils from *Cinnamomum* species against Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *S. aureus* strains. Three essential oils were commercially obtained: *Cinnamomum cassia*, *Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum* and *Cinnamomum camphora*, and submitted to gas chromatography for chemical characterization. The essential oils were evaluated in the broth microdilution test, in microplates and serial dilutions, to determine the minimum inhibitory concentration (MIC), following CLSI recommendations with modifications. Aliquots of growth-inhibited wells were seeded on solid medium to verify bactericidal or bacteriostatic activity. Two MRSA strains (N315 and BEC9393), and two MSSA strains (ATCC 25923 and ATCC 29213) were used. The essential oil of *C. cassia* showed better activity, inhibiting more resistant strains than sensitive strains, with MIC values of 0.625 mg/mL and 1.25 mg/mL for MRSA strains N315 and BEC9393, respectively, while for the MSSA strains the value obtained was the same as 2.5 mg/mL. The essential oil of *C. camphora* presented a MIC of 5 mg/mL for both resistant strains and for ATCC 25923, while the ATCC 29213 strain was inhibited with a maximum concentration of 10 mg/mL. All minimal inhibitory concentrations were bactericidal. The essential oil of *C. camphora* var. *linalooliferum* did not show an inhibitory effect up to the maximum concentration tested. The chemical characterization of essential oils showed the majority presence of trans cinnamaldehyde for *C. cassia*, linalool for *C. camphora* var. *linalooliferum* and cinnamic aldehyde for *C. camphora*. Differential inhibition of *C. cassia* essential oil against MRSA strains indicates a possible target also differentially expressed. More studies are being carried out to investigate this differential mechanism of action.

Evaluation of the inhibitory activity of actinomycetes isolated from soil samples from Rio Nambí reserve (Nariño-Colombia) on bacteria multi-resistant to antibiotics

Luis Alberto Ortega Bastidas¹, Roger David Castillo Arteaga², **Jenny Dimelza Gómez Arrieta**¹, Pablo Fernández Izquierdo¹, Edith Mariela Burbano Rosero¹

(1) Universidad de Nariño, Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y exactas, Torobajo - Calle 18 Carrera 50, Pasto, Colombia

(2) University of Tübingen, Department of Pharmaceutical Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Geschwister-Scholl-Platz 72074 Tübingen Germany, Tübingen, Germany

Introduction: Infections caused by bacterial pathogens are common and increasingly prevalent in the hospital environment. The most common way for its control and treatment has focused on the use of antibacterials, however, these are less and less efficient, mainly due to the resistance caused by their indiscriminate use or by innate or acquired mechanisms that these microorganisms develop for their survival in an adverse environment. Recent publications, including statements from the World Health Organization, have announced the serious problem of Antimicrobial Resistance (ADR) that we are currently facing and that tends to worsen in the future, due to the lack of effective treatments and medications. to reduce the impact of pathogenic microorganisms. It is estimated that the actinomycetes group produces around 70% of the existing antimicrobials, however, it is necessary to explore new sources of antimicrobials to reduce the impact of the resistance of pathogenic microorganisms with a wide prevalence in hospitals, such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on the different populations. **Objective:** The objective of this work was isolate and identify actinobacteria from soil samples from little-explored land belonging to the Nambí river reserve (Nariño-Colombia) that had inhibitory activity against antibiotic-resistant pathogenic bacteria (*S. aureus* and *E. coli*) isolated from a clinical source. **Methodology:** Once the soil samples were obtained, colonies with macro and microscopic morphological characteristics of actinomycetes were isolated, extractions of secondary metabolites were carried out and molecular analyzes such as the extraction of chromosomal DNA and amplification of the 16S rRNA gene were complemented. The amplicons were sent to the Corpogen Company, the sequences were edited and compared using the databases of the Ribosomal Database Project and NCBI, later the phylogenetic tree was constructed using the MEGA program. Finally, preliminary inhibition analyzes of multidrug-resistant *E. coli* and *S. aureus* were carried out using products of the secondary metabolism of the actinomycetes obtained. **Results:** 11 isolates with actinomycete characteristics were obtained, after carrying out the molecular analyzes, it was concluded that 4 of them corresponded to the *Streptomyces* family. The analysis of the phylogenetic tree showed genetic diversity among the isolates. The inhibitory activity tests on multidrug resistant bacteria showed that of the 4 isolates, 3 showed activity on *E. coli* and only one of these also showed it on *S. aureus*. This isolate was duly identified as *Streptomyces* p3772. It is expected in the future to deepen the study of the chemical composition of the extracts obtained from secondary metabolism and to identify new drugs with antibacterial activity on these resistant bacteria that have pharmacological application. Additionally, it is convenient to carry out more studies of biodiversity associated with actinomycetes as this is a promising ecosystem for obtaining them. **Conclusion:** It is concluded that the Nariño ecosystem is a potential source of actinomycetes that produce antibacterial compounds useful for the fight against bacteria linked to antimicrobial resistance.

Financing: Centro de estudios Avanzados, Fundación CEIBA, Universidad de Nariño

Avaliação da atividade antifúngica de β -asarol frente a cepas de *Candida albicans*

Daniela Bomfim de Barros¹, Luanna de Oliveira e Lima², Larissa Alves da Silva², Gheorgia Victória de Medeiros Beltrão⁴, Mariana Cavalcante Fonseca², Hermes Diniz Neto², Lúcio Roberto Caçado Castellano³, Brenna Louise Cavalcanti Gondim³, Felipe Queiroga Sarmiento Guerra², Márcia Vanusa da Silva¹

(1) Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Av. Moraes Rego 1325- Cidade Universitária, Recife, Brasil

(2) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Campus I- Cidade Universitária, João Pessoa, Brasil

(3) Universidade Federal da Paraíba, Escola Técnica de Saúde, Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa, Brasil

(4) Centro Universitário Maurício de Nassau, Av. Pres. Epitácio Pessoa 1201 - Estados, João Pessoa, Brasil

Introdução: A alta prevalência de infecções fúngicas tem sido relatada na última década como um grave problema de saúde pública. Fungos do gênero *Candida* destacam-se por ocasionarem infecções sistêmicas, o que faz com que diversos estudos voltados para esse gênero sejam realizados. A terapêutica antifúngica tradicional é escassa, sendo poucos os fármacos disponíveis, além de possuírem elevada toxicidade. Uma alternativa a essa problemática é a descoberta de novas substâncias, oriundas de produtos naturais, dentre elas os terpenos. **Objetivo:** Assim sendo, o presente estudo objetivou avaliar a atividade antifúngica do terpeno β -asarol frente a cepas de *Candida albicans*. **Metodologia:** A metodologia utilizada para o referido estudo foi a do teste de microdiluição em placa de 96 poços, com a finalidade de determinar sua concentração inibitória mínima (CIM). Os testes foram realizados em duplicata e o antifúngico padrão utilizado foi a anfotericina B. **Resultados e discussão:** o β -asarol foi testado frente a 8 cepas de *Candida albicans*, sendo elas ATCC 76485, ATCC 90028, LM-587, LM-616, A-011, A-05, A-15 e A-20. O terpeno apresentou CIM a uma concentração de 128 $\mu\text{g/ml}$ frente às cepas ATCC 76485 e A-15 e de 512 $\mu\text{g/ml}$ frente à ATCC 90028. As demais cepas foram inibidas em concentrações do terpeno acima de 1024 $\mu\text{g/ml}$. Já o antifúngico padrão inibiu todas as cepas a uma concentração de 4 $\mu\text{g/ml}$. **Conclusão:** Conclui-se, portanto, que apesar de a substância teste não ter apresentado perfil interessante de inibição quando comparada à anfotericina B, estudos futuros podem ser conduzidos com o intuito de investigar o seu efeito conjunto com outras substâncias, as quais possibilitem potencializar sua atividade.

Financing: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

Nanopartículas poliméricas cargadas con extractos de *Curcuma longa* y *Berberis vulgaris* y sus principales componentes contra *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis* en ensayos In-vitro

Joel Horacio Elizondo Luévano¹, Alejandra Pacheco Ordaz¹, Juan Gabriel Báez González², Magda Elizabeth Hernández García¹, Rocío Castro Ríos³, Eduardo Sánchez García¹, Abelardo Chávez Montes¹

(1) Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria. C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, México

(2) Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria. C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, México

(3) Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Química Analítica, Facultad de Medicina, Dr. José Eleuterio González, C.P. 64460, Monterrey, México

En los países tropicales y en desarrollo, los protozoos patógenos constituyen un importante problema de salud pública. Es por eso la importancia de encontrar fuentes nuevas con compuestos que trabajen como agentes antiparasitarios. Las plantas representan una fuente importante y diversidad de biomoléculas con estas propiedades. El objetivo principal de este estudio fue la evaluación de los extractos de etanol de *Curcuma longa* y *Berberis vulgaris*, así como de sus principales componentes, la curcumina (Cur) y berberina (Ber), en forma no encapsulada y encapsulada en nanopartículas (NPs) poliméricas, sobre los trofozoítos de *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis*, así como evaluar la actividad hemolítica. Además, se estudió la morfología de las NPs, el tamaño medio de las partículas, el índice de polidispersidad (PDI) y los porcentajes de encapsulación (%EE) de las formulaciones. El análisis fitoquímico de los extractos mostró que *C. longa* tenía principalmente taninos, fenoles y flavonoides, y *B. vulgaris* alcaloides. Las NPs fueron significativamente ($P < 0.001$) más eficaces en comparación con sus homólogas no encapsuladas, pero CurNPS y BerNps fueron los tratamientos más eficaces. CurNPS mostró valores IC₅₀ (µg/mL) de 9.48 y 4.25, contra *E. histolytica* y *T. vaginalis* respectivamente, y BerNps 0.24 y 0.71. Los respectivos tamaños de partícula y porcentajes de encapsulación para las CurNPs y las BerNPs fueron de 66,5 y 73.4 nm, 83.59 y 76.48 %, respectivamente. El análisis de microscopio electrónico de barrido (SEM) mostró que las NPs tenían una morfología esférica. Por último, analizamos si los extractos etanólicos y las NPs inducían la actividad hemolítica y descubrimos que las NPs reducían significativamente la hemólisis en comparación con los extractos no encapsulados. Por lo tanto, estos hallazgos sugieren que el uso de las NPs representan una valiosa y novedosa fuente de administración de compuestos bioactivos para el tratamiento terapéutico de enfermedades causadas por protozoos de interés clínico ya que potencian la actividad amebicida y tricomonocida de los productos administrados sin una actividad hemolítica significativa. Por lo tanto, la presente investigación contempla la evaluación y validación de los extractos vegetales como agentes antiparasitarios y, su potencial incremento de la actividad biológica con su administración en un sistema polimérico nanoparticulado.

Financing: Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), becas CB176853 y CB418935.

“In Silico” analysis of a recombinant fungal L-asparaginase produced in *Komagatella pastoris*

SAMUEL CARDOSO¹, Maurício Homem-de-Mello², Paula Souza¹, Pérola Magalhães¹

(1) Laboratory of Natural Products - University of Brasilia, Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, UnB - Brasília, DF, 70910-900, Brasilia, Brazil

(2) InSiliTox - University of Brasilia, Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, UnB - Brasilia, DF, 70910-900, Brasilia, Brazil

Production of therapeutic enzymes as L-asparaginase through recombinant engineering technology is one of the best ways to yield high concentrations in a relatively short time. This work includes an in silico analysis of a recombinant fungal L-asparaginase made in *Komagatella pastoris*. Enzyme sequence was obtained from a *Fusarium proliferatum* strain and cloned in *K. pastoris* heterologous system. The in silico studies were carried out in ExPasy® - Swiss Model, ITASSER®, Discovery Studio Client, Modeler 3D and Profiles 3D. QMEAN, C-score, DOPE-Score and Verify Score were used as parameters of quality and reliability. The sequence containing 437 amino acids (Seq1) was analyzed by homology using SwissModel Software and ITASSER® resulting in a QMEAN of - 1.22 and C-score of - 0,38. This sequence was compared with the template PDB 5i3z.1.A. The 107 initial amino acids were removed from the sequence (Seq 2) to optimize the comparative analysis. C-score value improved to 1.59. A new homology model, using Seq2 was built, using *E. coli* PDB 1ZCF.A as a template. After software prediction, 10 structures were proposed to correlate the fungal L-asparaginase sequence with the template. The best-scored unit presented a monomeric structure with molecular weight of 46,444 Da, an isoelectric point of 7.06, a DOPE-Score of -0.4274 and a Verify Score of 0.45. Still, it was possible to identify antigenic regions when the fungal L-asparaginase sequence, compared to the *Escherichia coli* template. This study presented a computational simulation of a fungal L-asparaginase, that could be important to preview some physicochemical and therapeutical parameters, and presents an important evolution in development of new biological drugs.

Financing: Federal District Research Support Foundation

Drug repurposing to treat *Helicobacter pylori* infection

Javier Casado Apastegui¹, Ángel Lanás Arbeloa¹, Andrés González Rodríguez¹

(1) Fundación Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), Bosco 13, 50009, Zaragoza, España

Unless treated, *Helicobacter pylori* infection usually persists lifelong causing gastric inflammation and contributing to the pathogenesis of peptic ulcer disease, gastric adenocarcinoma, and mucosa-associated lymphoid-tissue (MALT) lymphoma. The alarming increase in antimicrobial resistance to first-line antibiotics such as claritromycin and metronidazole, but also to levofloxacin-based rescue regimens, begins to limit the applicability of most eradication therapies worldwide. In 2017, the World Health Organization included *H. pylori* in its first ever list of antibiotic-resistant “priority pathogens”, a catalogue of 12 families of bacteria that pose at present the greatest threat to human health. Nowadays, an effective novel therapy against *H. pylori* is mandatory in order to increase eradication rates and minimize both antimicrobial resistance and side effects on normal microbiota. Drug repurposing has emerged as an alternative approach for the development of novel and effective antimicrobial therapies. Discovering a novel clinical use for an existing drug previously approved for a different therapeutic indication can minimize the costs and risks associated with drug development programs and accelerate the delivery of new therapeutics to patients with refractory infections or emerging infectious diseases. A high-throughput screening of the Prestwick® Chemical Library by using a fluorescence-based thermal shift assay led to the identification of two major classes of FDA-approved compounds that bound to the *H. pylori* response regulator HsrA and inhibited its essential biological function: (1) natural flavonoids and (2) 1,4-dihydropyridine (DHP) antihypertensive drugs. HsrA ligands from both families of bioactive compounds exhibited strong bactericidal activities against different strains of *H. pylori*, including both clarithromycin- and metronidazole-resistant strains. Some of these novel anti-*H. pylori* repurposable drug candidates demonstrated synergistic bactericidal activities when they were used in combination with conventional antibiotics. Experimental therapies with 100 mg/kg/day of either Nimodipine or Nitrendipine, in combination with omeprazole (140 mg/kg/day) daily during 7 days, led to significant reductions in the *H. pylori* gastric colonization in mice. Overall, the results strongly support the use of DHPs and natural flavonoids as novel repurposable antimicrobial drugs against *H. pylori* infection.

Enfoque sobre terapias pasivas con anticuerpos y vacunas a base de péptidos contra patógenos emergentes como el coronavirus SARS-CoV-2

Marco Palma¹

(1) Investigador independiente, Current Bioscience, Torrevieja, España

Introducción Las enfermedades infecciosas siguen siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en la población. Numerosos patógenos emergentes y reemergentes ponen en riesgo nuestra salud cada año. La experiencia con el SARS-CoV-2 que se ha propagado rápidamente por todo el mundo nos ha hecho reflexionar sobre la necesidad de estar preparados para actuar rápidamente contra nuevos patógenos. **Métodos** Se llevó a cabo una extensa investigación bibliográfica utilizando filtros de palabras clave para seleccionar artículos relacionados con "anticuerpos terapéuticos", "anticuerpos neutralizantes", "vacuna peptídica" en combinación con "SARS-CoV-2", "patógeno emergente" o "reemergente", y "enfermedades infecciosas". Esta investigación se llevó a cabo sobre artículos publicados en inglés en las bases de datos PubMed y Scopus desde el 1 de enero de 2020 al 12 de diciembre de 2020. En la base de datos de ClinicalTrials.gov se buscaron ensayos clínicos utilizando los siguientes términos de búsqueda: condición o enfermedad = "enfermedad infecciosa"; otros términos = "anticuerpo" o "anticuerpo terapéutico" o "anticuerpos monoclonales" o "péptido terapéutico" o "vacuna peptídica". **Resultados** En total 106 artículos y páginas científicas fueron analizados para identificar posibles herramientas o estrategias contra patógenos emergentes. Cuando aparece un patógeno desconocido y provoca un brote, las células B de los pacientes en recuperación pueden ser un recurso valioso del repertorio de anticuerpos que los pacientes expresan durante las infecciones. Este repertorio se puede utilizar en transfusiones de plasma de convalecientes o para cribar anticuerpos terapéuticos e identificar epítomos inmunogénicos. Hasta ahora han sido aprobados varios anticuerpos terapéuticos contra el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S del SARS-CoV-2 (p. Ej., regdanvimab, bamnanimab, etesevimab y casirivimab / imdevimab) los cuales fueron seleccionadas utilizando citometría de flujo, secuenciación de próxima generación y phage display. Esto indica que estas técnicas pueden ser valiosas para desarrollar anticuerpos terapéuticos frente patógenos emergentes especialmente la técnica de phage display, porque no requiere equipos caros y se puede usar en la mesa de laboratorio, lo que la hace adecuada para laboratorios con pocos recursos. Además, los anticuerpos de pacientes convalecientes se pueden utilizar para seleccionar péptidos de una biblioteca combinatoria de fagos para identificar epítomos para el desarrollo de vacunas. Se han desarrollado diferentes tipos de vacunas contra el SARS-CoV-2, incluidas vacunas de virus inactivados, vacunas de ARN mensajero, vacunas de vectores no replicantes y subunidades de proteínas. Las vacunas de ARN mensajero tienen numerosas ventajas sobre las vacunas existentes, como eficacia, facilidad de fabricación, seguridad y rentabilidad. Además, la vacunación con epítomos puede constituir una estrategia atractiva para inducir altos niveles de anticuerpos contra un patógeno y los fagos podrían usarse como portadores inmunogénicos de tales péptidos. Este es un punto que vale la pena considerar más a fondo, ya que las vacunas basadas en fagos han demostrado ser seguras en ensayos clínicos y los fagos son fáciles de producir y toleran altas temperaturas. **Conclusión** La identificación del repertorio de anticuerpos de los pacientes en recuperación y los epítomos que reconocen debería ser una opción atractiva para desarrollar anticuerpos terapéuticos y profilácticos y vacunas contra patógenos emergentes.

Dos especies del genero *Achantospermum* presentan actividad antiviral contra el Herpes Simplex Virus 1.

Guadalupe Cantero-González¹, Nelson Alvarenga², Marcos Florentín-Pavía¹, **Pablo Sotelo**¹

(1) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Fitoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay

El VHS1 infecta a humanos causando encefalitis herpética con compromiso de la vida en pacientes inmunocomprometidos. Se ha observado una mayor frecuencia de aislamiento de cepas resistentes al tratamiento antiviral. Debido a ello es necesario el desarrollo de nuevas fuentes de tratamiento. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar la actividad antiviral de extractos metanólicos y fracciones del género *Achantospermum* procedentes del Paraguay contra el VHS1. Los candidatos antivirales evaluados fueron: el extracto metanólico de *A. australe* y *A. hispidum*, y las fracciones de butanol, cloroformo, hexano y acetato de etilo de las mismas especies. La evaluación de la actividad antiviral se realizó mediante el sistema de qPCR. Se observó actividad antiviral en los extractos metanólicos y en las fracciones clorofórmicas y hexánicas de *A. australe* y *A. hispidum*. Las fracciones clorofórmicas y hexánicas presentaron mejores características antivirales que sus respectivos extractos metanólicos, medidos a través del índice de selectividad. En cuanto a la evaluación del mecanismo de acción los extractos metanólicos y las fracciones clorofórmicas de *A. australe* y *A. hispidum* actúan a todas las etapas del ciclo viral, mientras que las fracciones hexánicas de ambas especies actúan a nivel celular en las etapas de pre-adsorción o pos-adsorción viral. Además fue posible evaluar la composición química de las fracciones activas donde se observó la presencia de 5,7,3',4'-tetrahidroxi-3,6-dimetoxiflavona o axilarina, 5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona o 3,6 dimetoxiapigenina, 5,4'-dihidroxi 3,6,7 trimetoxi flavona o penduletina, 3',4',5-trihidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona o crisosplenol D, (Z,Z)-9,12-octadecadienoato de metilo, y fitol. Estos resultados demuestran que las especies vegetales procedentes del Paraguay son fuentes prometedoras de moléculas antivirales y justifican análisis más exhaustivos del mecanismo de acción. Además, demuestra que el método de qPCR constituye una herramienta para la identificación de productos vegetales con actividad antiviral.

Financing: Este proyecto es financiado por el CONACYT a través del Programa PROCIENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e investigación EEI del FONACIDE. Proyecto PINV14-149

Atividade do terpeno di-hidrojasmona frente a cepas de *Candida* spp.

Mariana Cavalcante Fonseca¹, Larissa Alves¹, Luanna Lima¹, Edeltrudes Lima¹, Josean Fechine¹, Felipe Guerra¹
(1) Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, João Pessoa, Brasil

Um crescente número de infecções fúngicas tem sido relatado nas últimas décadas. Nesse panorama, destacam-se as candidíases, infecções que tem como agente etiológico as leveduras do gênero *Candida*, sendo responsáveis por 80% dos casos de infecções fúngicas sistêmicas. Na terapêutica das candidíases ressalta-se o uso dos azólicos, como fluconazol, dos derivados poliênicos, como a nistatina e a anfotericina B, e, do grupo das equinocandinas. Entretanto, os efeitos adversos e o custo elevado do tratamento convencional configuram-se como um obstáculo na efetividade da terapêutica dessa. Associado a isso, tem-se o aumento de cepas multirresistentes, causando preocupação aos profissionais da saúde. Dessa maneira, surgiu a necessidade de buscar-se novas alternativas de tratamento, e os compostos extraídos de plantas e seus derivados tem ganhado notoriedade, a exemplo dos terpenos. Logo, este estudo teve como objetivo analisar a atividade antifúngica do terpeno di-hidrojasmona frente a cepas de *Candida* spp foram usadas 7 cepas, sendo 4 de *Candida parapsilosis* e 3 de *Candida albicans*. Como metodologia utilizada foi realizada a técnica de microdiluição para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e fungicida mínima (CFM) do terpeno frente cepas padrão e clínicas de *Candida*. Como resultado observou-se que di-hidrojasmona possui forte atividade antifúngica com CIM = 256 µg/mL e esta atividade é fungicida pois sua CFM ficou estabelecida em 512 µg/mL. Logo este trabalho conclui que o terpeno di-hidrojasmona possui atividade fungicida frente *Candida* spp., sendo uma promissora molécula para utilização na prática clínica.

Financing: Financiado pelo CNPq

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA A PARTIR DE EXTRACTOS CRUDOS DE *Passiflora edulis*, *Selaginella geniculata*, *Cannabis sp* EN CULTIVO DE PARÁSITOS (*Toxoplasma gondii* y *Blastocystis sp*)**FABIANA MARIA LORA SUAREZ¹**, VALERIA ALEJANDRA PINTO DUARTE², NELSY LOANGO CHAMORRO³

(1) UNIVERSIDAD DEL QUINDIO, GRUPO DE INVESTIGACION EN CIENCIAS BASICAS Y EDUCACION (GICBE), PROGRAMA DE BIOLOGIA/ GRUPO DE ESTUDIO EN PARASITOLOGIA MOLECULAR (GEPAMOL), FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y TECNOLOGIAS, CRA 15 CALLE 12N AV. BOLIVAR, ARMENIA-QUINDIO, COLOMBIA

(2) UNIVERSIDAD DEL QUINDIO, GRUPO DE ESTUDIO EN PARASITOLOGIA MOLECULAR (GEPAMOL). CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS, FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y TECNOLOGIAS, CRA15 CALLE12N AV. BOLIVAR, ARMENIA-QUINDIO, COLOMBIA

(3) UNIVERSIDAD DEL QUINDIO, GRUPO DE INVESTIGACION EN CIENCIAS BASICAS Y EDUCACION (GICBE). PROGRAMA DE BIOLOGIA, FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y TECNOLOGIAS, CRA 15 CALLE12N AV. BOLIVAR, ARMENIA-QUINDIO, COLOMBIA

Las enfermedades parasitarias siguen siendo uno de los principales problemas en salud pública en nuestro país, prevenirlas y controlarlas son un reto para la investigación. Las sustancias químicas sintetizadas en el laboratorio que no se pueden utilizar por su toxicidad o efectos secundarios aumentan constantemente. Es así como el uso de las plantas medicinales resulta ser una alternativa para el control de estas enfermedades. Los antiparasitarios utilizados para la infección producida por *Toxoplasma gondii* y *Blastocystis sp* son tóxicos en algún grado para los humanos. Por tanto, nos propusimos evaluar la actividad antiparasitaria a partir de extractos crudos de *Selaginella geniculata*, *Passiflora edulis* y *Cannabis sp* en cultivo de *T. gondii* y *Blastocystis sp*. Se inició con el establecimiento de las condiciones bioquímicas del cultivo de estos dos protozoos, según los protocolos del grupo GEPAMOL. Después de establecer el cultivo se realizaron ensayos con 10.000 células en placas de 96 pozos y se utilizarán diferentes concentraciones de los extractos crudos (320 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml y 1,7 µg/ml). A los compuestos biológicos se les realizó un ensayo de citotoxicidad para determinar viabilidad celular utilizando Resazurina como indicador en una línea celular (HFF). Como resultado de la citotoxicidad sólo una de las concentraciones (320 µg/ml) utilizadas para *S. geniculata* no fue óptima para posteriores ensayos. Se encontró un efecto significativo de *Passiflora edulis* sobre la proliferación de la infección por *T. gondii* en células HFF. Sin embargo, no se encontró ningún de los extractos evaluados efecto sobre *Blastocystis sp*. Este es el primer estudio donde se reporta el uso de extractos crudos de *Selaginella geniculata*, *Passiflora edulis* y *Cannabis sp* en cultivo de *T. gondii* y *Blastocystis*, ya que hasta el momento no se han reportado investigaciones previas que prueben los extractos crudos anteriormente mencionados contra estos parásitos. Los extractos de *Passiflora edulis* y *Cannabis sp* han sido mas ampliamente estudiados sin embargo para el caso de *S. geniculata* es la primera vez que se emplea un extracto crudo de esta especie y se evalúa su efecto antiparasitario.

Financing: Este proyecto fue financiado por el Grupo de Investigación en Ciencias Básicas y Educación (GICBE), Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Quindío.

Quercetina y fisetina inhiben la replicación del virus del dengue y la secreción de citocinas pro-inflamatorias en macrófagos infectados con diferentes serotipos del virus

María Carolina Jasso Miranda^{1,2}, Irma Herrera Camacho², Julio Roberto Reyes Leyva¹

(1) Centro de Investigación Biomédica de Oriente, Laboratorio de Virología e Inmunología, Km 4.5 carretera Atlixco-Metepec, 74360, Metepec, Atlixco, Puebla., México

(2) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, CQ-ICUAP-BUAP, Puebla, Puebla, México

El dengue es la principal enfermedad viral transmitida por vector a nivel mundial, puede presentarse desde un cuadro asintomático hasta cuadros severos que pueden provocar la muerte del paciente. No existe un tratamiento antiviral específico ni una vacuna completamente eficaz contra el dengue; por otro lado, en diversos estudios se ha propuesto que la patología se encuentra relacionada con la respuesta inmune generada contra la infección, principalmente por una desregulación en la secreción de citocinas pro-inflamatorias. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antiviral e inmunomodulador de quercetina y fisetina en macrófagos U937-DC-SIGN infectados con diferentes serotipos del virus del dengue. Para ello, macrófagos U937-DC-SIGN fueron infectados con los cuatro serotipos vitrales, tanto por la vía clásica como mediada por anticuerpos (vía ADE, utilizando el anticuerpo monoclonal 4G2); después de la infección se realizaron tratamientos con quercetina y fisetina a diferentes concentraciones no citotóxicas (20-100 μM). Los sobrenadantes fueron recolectados a diferentes tiempos, desde las 6 hasta las 96 horas, para determinar posteriormente el título viral utilizando el método de formación de placas líticas y la concentración de las citocinas IL-6, IL-10, TNF- α e IFN- γ por ELISA. Como resultado obtuvimos que ambos flavonoides mostraron efecto antiviral importante contra los cuatro serotipos del virus del dengue utilizados, tanto en las infecciones por vía clásica como en las mediadas por anticuerpos. De igual manera, ambos flavonoides tuvieron un efecto inhibitorio en la secreción de todas las citocinas evaluadas, destacando principalmente la inhibición en la secreción de IL-6, IL-10 y TNF- α . Como conclusión general tenemos que quercetina y fisetina son buenos candidatos terapéuticos contra el dengue ya que son capaces de inhibir la replicación de diferentes cepas del virus además de ejercer un efecto inhibitorio en la secreción de citocinas relacionadas con la severidad en dengue. De ambos polifenoles, la fisetina presentó mejor actividad en comparación con la quercetina: fisetina tiene valores de IC50 más bajos para la inhibición de la replicación viral y la secreción de citocinas, en comparación con los valores obtenidos para la quercetina.

Financing: El trabajo fue financiado por el Instituto Mexicano del Seguro Social (FIS/IMSS/PROT/G2017-2/1732) y por Redes Temáticas-SEP (BUAP-CA-147).

Desarrollo de un nuevo fármaco a base de nanopartículas cargadas para la erradicación de biofilms de *Proteus mirabilis*.

Erlen Cruz¹, Nicolas Navarro^{2,3,4}, Maria José González¹, Javier Morales^{3,4,5}, Eduardo Méndez⁶, Luciana Robino⁷, Paola Scavone¹

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Departamento de Microbiología, Laboratorio de Biofilms Microbianos, Av. Italia 3318, 11600, Montevideo, Uruguay

(2) Universidad de la República, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, 11400, Montevideo, Uruguay

(3) Centro de Nuevos Medicamentos para la Hipertensión (CENDHY), Santos Dumont 964, Independencia, Santiago de Chile, Chile

(4) Centro Avanzado de Enfermedades Crónicas (ACCDiS), Sergio Livingstone 1007, Independencia, Santiago de Chile, Chile

(5) Universidad de Chile, Departamento de Ciencia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santos Dumont 964, Independencia, Santiago de Chile, Chile

(6) Universidad de la República, Laboratorio de Biomateriales, Facultad de Ciencia, Iguá 4225, 11400, Montevideo, Uruguay

(7) Universidad de la República, Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Dr. Alfredo Navarro 3051, 11600, Montevideo, Uruguay

Proteus Mirabilis es un microorganismo presente con frecuencia en pacientes con infección del tracto urinario asociada a una sonda vesical. En su patogenia produce biofilms muy difícil de erradicar con antibióticos de uso común como ceftriaxona, amoxicilina-ácido clavulánico, cefuroxima o fosfomicina. De ahí que se han dedicado numerosos esfuerzos a la búsqueda de antibióticos más eficaces. Los nanotransportadores de fármacos son vehículos nanométricos que se utilizan para administrar fármacos o biomoléculas de forma específica y controlada. Como sistema de administración de fármacos, las nanopartículas (Nps) entre las que se destaca las nanopartículas de oro (Au-Nps) pueden atrapar o unirse covalentemente a fármacos o biomoléculas en sus estructuras interiores y absorberlos en su superficie exterior. Así mismo han surgido como nuevos agentes antimicrobianos, lo que ha propiciado que presenten un enorme potencial en aplicaciones biológicas, médicas y farmacéuticas. De ahí que el objetivo del presente trabajo está dirigido a sintetizar y caracterizar Au-Nps cargadas con cefuroxima y fosfomicina y evaluar su actividad en la erradicación de biofilms de *Proteus mirabilis*. La síntesis de las nanopartículas conjugadas se realizó en dos etapas. En la primera se obtuvieron las nanopartículas de oro mediante una variante del sistema de reacción clásico de Turkevich / Frens. En la segunda, los antibióticos en condiciones suaves (Temperatura ambiente, agua) mediante un método no covalente de intercambio de ligando secuestraron las Au-Nps. Tanto la síntesis de las Au-Nps como las Au-Nps conjugadas o funcionalizadas se siguieron por Uv-Vis (300-700 nm) y fueron posteriormente caracterizada con una serie de técnicas complementarias como: dispersión de luz dinámica, potencial Z, Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). Los estudios de erradicación de biofilms y de comunidades bacterianas intracelulares se realizaron mediante un protocolo previamente establecido por el Laboratorio de Biofilms Microbianos del IIBCE. Los resultados mostraron una banda plasmónica superficial sobre los 528 nm característica de Au-Nps, por su parte las Au-Nps cargadas presentaron un ligero corrimiento de la banda plasmónica hacia el azul. En el estudio preliminar de biofilms realizado se observó que tanto Au-Nps como Au-Nps cargadas son capaces de disminuir la cantidad de bacterias planctónicas en relación al control sin tratar y que existe una cierta tendencia a la disminución de biofilm por parte de todas las Nps. De ahí que se puede concluir que se obtuvieron nanopartículas de oro funcionalizadas con cefuroxima y fosfomicina, así como que las Au-Nps funcionalizadas muestran un potencial interesante en el tratamiento de biofilms.

Financing: Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC I+D 2018)

Antifungal activity of *Mentha* spp. essential oils against *Candida albicans* and *Cryptococcus gattii*

Antonio Augusto Ignacio¹, Katiane Pompermayer¹, DeJane Santos Alves¹, Erika Izumi¹
(1) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brazil

Plants generically known as mints comprise more than twenty species within the genus *Mentha*, widely used for having flavoring, aromatic and medicinal properties. Although they are often used in a similar way, different species can present variations in chemical composition, consequently different pharmacological potential. Human infections caused by pathogenic yeasts are increasing and their treatment options, depending on the pathogen, become very restricted, as in the case of cryptococcosis and some candidiasis. The aim of the study was to evaluate the antifungal activity of three essential oils of *Mentha* species against two pathogenic yeasts of medical importance. The microorganisms used were *Candida albicans* ATCC 26790 and *Cryptococcus gattii* ATCC 56990. The essential oils of the species *Mentha spicata*, *Mentha piperita* and *Mentha arvensis* were commercially purchased and tested in the broth microdilution assay, to determine the inhibitory effect following CLSI recommendations, with modifications. The wells where the microbial growth was inhibited, aliquots were plated on solid media to verify the fungicidal or fungistatic activity. *M. arvensis* essential oil was the most active, with MIC values of 2.5 mg/mL for both *C. albicans* and *C. gattii*. *M. piperita* showed differential inhibition, with greater activity against *C. albicans* than *C. gattii*, with MIC of 2.5 and 5 mg/mL, respectively. *M. spicata* showed similar inhibition activity of 5 mg/mL against both pathogens. All inhibitory values were fungicidal, with the exception of *M. arvensis* for *C. gattii*, whose minimum fungicidal concentration was 5 mg/mL. The discovery of compounds with differential action can help in the search for new drugs, natural or synthetic derivatives, for the treatment of fungal diseases.

Desarrollo y caracterización de nanopartículas asociadas a anticuerpos como estrategia innovadora para la detección y neutralización de la toxina Shiga tipo 2

Flavia Sacerdoti¹, Marcela Moretton², Fernando Gomez¹, Claudio Daniel Giron Reyes¹, Maria Marta Amaral¹, Diego Chiappetta², Cristina Ibarra¹

(1) Instituto de Fisiología y Biofísica Bernardo Houssay (Universidad de Buenos Aires-CONICET), Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Paraguay 2155, CABA, Argentina

(2) Universidad de Buenos Aires, Cátedra de Tecnología Farmacéutica I, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junin 954, CABA, Argentina

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno de transmisión alimentaria responsable de desencadenar el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). El principal factor de virulencia de STEC implicado en el desarrollo del SUH, es la toxina Shiga (Stx). La variante tipo 2 de Stx (Stx2) es la que se asocia a los cuadros clínicos más graves de esta enfermedad. En el presente trabajo proponemos desarrollar y caracterizar nanopartículas acopladas a anticuerpos con alta capacidad neutralizante de Stx2 con el objetivo de introducir propuestas innovadoras para la detección de Stx y el tratamiento de SUH. Se formularon nanopartículas (NP) de Soluplus® al 1 y 5 % p/v en PBS y se acoplaron diferentes concentraciones (2, 4 y 6 mg/ml) de Ac bovino anti Stx2 de calostro bovino hiperinmune (NP-IgG-Stx2) o control (NP-IgG-Ctrl), previamente purificados por cromatografía de afinidad. Se evaluó por la técnica de DLS (Dispersión de Luz Dinámica) el tamaño de las NP de Soluplus®, las IgG solas y la asociación NP con las IgG. Se evaluó la toxicidad de las NP sobre células Vero con revelado por incorporación de rojo neutro. Una vez realizado el acople de las NP con las IgG se realizaron ensayos de neutralización de Stx2 in vitro sobre células Vero con diferentes concentraciones de la NP-IgG-Stx2 o NP-IgG-Ctrl y finalmente se determinó el % de viabilidad celular para cada tratamiento. El análisis de tamaño de las NP de Soluplus® mostró un diámetro hidrodinámico promedio de $70,2 \pm 1,5$ nm. Las IgG-Stx2 purificadas arrojaron un diámetro promedio a la concentración máxima utilizada de $40,9 \pm 2$ nm. Cuando ambos componentes se asocian (NP-IgG-Stx2 o NP-IgG-Ctrl) el diámetro que se conserva es el de la nanopartícula ($70,4 \pm 0,2$ nm). Las NP-IgG-Stx2 neutralizaron una CD50 de Stx2 sobre células Vero hasta con una concentración de 1 µg/ml de anticuerpo. Cuando se comparó la capacidad neutralizante de Stx2 por parte de IgG-Stx2 vs NP-IgG-Stx2 se observaron diferencias en la capacidad neutralizante con una mejora significativa en la viabilidad observada con el tratamiento realizado con NP-IgG-Stx2 respecto a de las IgG-Stx2 ($p < 0,001$). Se optimizó la asociación entre NPs de Soluplus® y anticuerpos de calostro bovino específicos contra Stx2 y se comprobó la eficacia de neutralización de las NP-IgG-Stx2 sobre la acción citotóxica de Stx2 en células Vero. Estos resultados pueden abrir la perspectiva hacia el diseño de nuevas plataformas para la neutralización y/o detección de Stx2.

Financing: PICT 2017-0617 ANPCyT, PUE 0041 CONICET

Actividad anti-*Staphylococcus aureus* del extracto metanólico de hojas de naranja de zona agrícola de Sonora, México

Enrique Wenceslao Coronado-Aceves^{1,2,3}, Svetlana Andjelkovic², Paulina Zúñiga-Aguilar², Edgard Esquer-Miranda¹, Nathaly Montoya-Camacho¹, Víctor Manuel Ocaño-Higuera⁴, Manuel Alejandro Vásquez-Quijada¹, Clara Inés Espitia-Pinzón³

(1) Universidad Estatal de Sonora. Sonora, México.

(2) Universidad Durango Santander. Sonora, México.

(3) Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.

(4) Universidad de Sonora. Sonora, México.

Staphylococcus aureus es una bacteria grampositiva, patógena, capaz de causar múltiples infecciones en el humano y en animales, desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves (Cervantes-García et al., 2014). Forma parte de la flora normal del humano constituyendo un riesgo por su diseminación (Cervantes-García et al., 2014), y también puede ser transmitida a través de los alimentos y causar intoxicaciones por enterotoxinas (Le Loir et al., 2003). Algunos estudios han documentado su prevalencia en varios productos cárnicos y marinos (Herrera et al., 2006; Kadariya et al. 2014). A pesar de existir un tratamiento para infecciones estafilocócicas, *S. aureus* ha desarrollado resistencia a múltiples fármacos como la metilicina y la vancomicina (Cekin et al., 2014; McGuinness et al., 2017), por ello resulta importante la búsqueda de nuevas moléculas antibacterianas para el tratamiento de este tipo de infecciones y que además sean útiles en la prevención de su diseminación a través de los alimentos. En ese sentido, múltiples investigaciones han demostrado que las plantas medicinales son un recurso útil para el aislamiento de nuevas moléculas antibacterianas. En la medicina tradicional mexicana las hojas del árbol de naranja dulce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck son utilizadas para tratar cólicos estomacales y como tranquilizante (Jiménez et al., 2012). En el año de 2019 recolectamos hojas de *C. sinensis* en la zona agrícola del estado Sonora, México, las cuales fueron secadas, molidas y extraídas con metanol. El extracto posteriormente se filtró, se concentró mediante evaporación rotatoria, y se sometió a un fraccionamiento cromatográfico en silica gel (230-400 mesh) utilizando fases móviles de polaridad ascendente (n-hexano, acetato de etilo, metanol), las fracciones fueron monitorizadas mediante cromatografía de capa fina y agrupadas según su similitud de composición química, obteniéndose 14 fracciones (F1-F14). Se evaluó la actividad anti-*Staphylococcus aureus* mediante el método de microdilución en caldo determinando la concentración inhibitoria mínima del 50% y 90% de la población bacteriana (MIC50 y MIC90) evidenciando la viabilidad mediante la medición de las absorbancias (Navarro et al., 2013) y se utilizó gentamicina como antibiótico control. El extracto crudo mostró una MIC50 a 400 µg/mL mientras que las fracciones más activas fueron F4 (MIC50= 100 µg/mL), F3 (MIC90= 200 µg/mL) y F5 (MIC 90= 400 ug/mL) evidenciando que en este caso que el fraccionamiento cromatográfico mejoró la actividad antimicrobiana. Otros estudios han demostrado el efecto de extractos y de aceites esenciales de *C. sinensis* en la inhibición del crecimiento de *S. aureus* (Favela-Hernández et al., 2016) así como su efecto en la formación de biopelículas (Zubair et al., 2020). El aislamiento y la elucidación estructural química de las moléculas responsables están siendo realizados. En conclusión el presente estudio demostró que el extracto metanólico de *C. sinensis* posee compuestos con actividad contra *S. aureus*.

Financing: UES 2020

Permeabilización de la membrana celular de *Escherichia coli* O157:H7 por el péptido Antimicrobiano Ib-M1

Monica Liliana Perez Rivera¹, Ana Elvira Farfán-García¹, Indira Paola Hernández Peñaranda²

(1) Universidad de Santander, Facultad de ciencias Medicas y de salud, Instituto de Investigacion Masira, Calle 70#55-210, Lagos del Cacique, Bucaramanga, Colombia

(2) Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Naturales, Calle 70#55-210, Lagos del Cacique, Bucaramanga, Colombia

Introducción: *Escherichia coli* O157:H7 es el serotipo más frecuente en los casos de disentería de la población menor de cinco años. Antibióticos como la azitromicina, fosfomicina y meropenem se han utilizado en la fase inicial de la enfermedad con el fin de prevenir el síndrome urémico hemolítico (SUH) causado por la toxina Shiga (Stx); sin embargo, el aumento de la resistencia de *E. coli* a los antibióticos ha conducido a la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. El péptido Ib-M1 ha mostrado actividad bactericida contra *E. coli* O157:H7 y baja toxicidad en células de mamíferos; no obstante, sus mecanismos de acción aún son desconocidos. Ib-M1 es una molécula catiónica y anfifílica; esto sugiere que su efecto antimicrobiano podría estar asociado a una interacción con la membrana bacteriana. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de Ib-M1 sobre la permeabilización de membrana de *E. coli* O157:H7. **Metodología:** Se determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) del péptido Ib-M1 en cepas de *E. coli* O157:H7 (ATCC® 43888™) y ML35 (ATCC® 43827™) mediante la técnica de microdilución descrita por la CLSI; polimixina y estreptomycin fueron usados como antibióticos de referencia. La permeabilidad de membrana externa se determinó empleando N-phenyl-1-naphthylamina (NPN) en *E. coli* O157:H7 tratada con los compuestos de estudio utilizando una, dos, cuatro, ocho, dieciséis y treinta y dos veces la CMI (CMIX1, CMIX2, CMIX4, CMIX8, CMIX16 y CMIX32), las mediciones fueron realizadas por espectrofluorometría durante 30 minutos a una longitud de onda de excitación y emisión de 355 y 405 nm respectivamente. La permeabilidad de la membrana interna fue realizada por hidrólisis de O-nitrofenil β-galactosidasa (ONPG) en *E. coli* ML35 tratada con los compuestos de estudio evaluando concentraciones desde CMIX1 hasta CMIX32, las lecturas espectrofotométricas fueron realizadas a 620 nm durante 6 horas. **Resultados:** Las CMI de Ib-M1, Polimixina y Estreptomycin en *E. coli* O157:H7 fueron $2,9 \pm 1,7 \mu\text{M}$, $0,0625 \pm 0 \mu\text{M}$ y $4,7 \pm 2,2 \mu\text{M}$, respectivamente; mientras que en *E. coli* ML35 fueron $6,3 \pm 0 \mu\text{M}$, $0,1 \pm 0 \mu\text{M}$ y $6,3 \pm 0 \mu\text{M}$, respectivamente. Ib-M1 causó permeabilización de la membrana externa de *E. coli* O157:H7 a partir de la CMIX1, mientras que polimixina causó dicho efecto desde la CMIX8 y estreptomycin no produjo permeabilización. La membrana interna de *E. coli* ML35 fue permeabilizada por Ib-M1 a concentraciones de CMIX1, CMIX2, CMIX4 y CMIX8, a partir de los 65, 60, 45 y 80 minutos, respectivamente; Polimixina causó permeabilización en todas las concentraciones evaluadas a partir de los minutos 85 (CMIX32 y CMIX16), 90 (CMIX8), 95 (CMIX4), 105 (CMIX2) y 115 (CMIX1) de exposición; la estreptomycin no causó permeabilización de la membrana interna. **Conclusión:** El péptido Ib-M1 permeabilizó la membrana externa e interna de *E. coli* el cual fue evidenciado en las reacciones de NPN y ONPG. Los resultados obtenidos aportan sobre los mecanismos de Ib-M1 en su acción antimicrobiana contra *E. coli* O157:H7.

Financing: Contrato 760-2018, UDES, Universidad de Santander, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Minciencias, Aplicación de sistemas combinados para el estudio de los mecanismos de acción antibacteriana de péptidos Ib-M libres y conjugados contra *Escherichia coli*

Evaluación de la actividad antifúngica de nuevos compuestos gemini frente a hongos fitopatógenos.

María Florencia Acuña Ojeda^{1,2}, Laura Marcela Machuca^{1,2}, Esteban Alfaro¹, Lorena Cecilia Spagnolo¹, Karen Anthonela Canteros¹, Maria Emilia Fernandez^{2,3}, Marcelo César Murguía^{2,4}

(1) Universidad de la Cuenca del Plata, Instituto de investigaciones Científicas (IDIC) - Sede Goya, Facultad de Ingeniería y Tecnología, Corrientes 57, Goya, Argentina

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290 (C1425FQB), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

(3) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC, UNL-CONICET), Ruta Nacional 168, KM 0, Santa Fe, Argentina

(4) Universidad Nacional del Litoral, Laboratorio de Química Aplicada, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, CC 242, Ciudad Universitaria, Santa Fe, Argentina

El desarrollo de nuevos compuestos bioactivos, con potencial aplicación en la horticultura y amigables con el medio ambiente, es primordial. Es por ello, que se han sintetizado tres surfactantes de la familia gemini, con dos cabezas polares (dicatiónicos) y dos colas hidrofóbicas de longitud de cadena variable (C12, C14 y C16), interconectadas por un espaciador, el 1,3-dicloro-2-propanol. Los mismos fueron denominados G1, G2 y G3, respectivamente. La actividad antifúngica de los compuestos fue evaluada, in vitro, mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM). Los valores de CIM se obtuvieron mediante la técnica de dilución en caldo, tomando como base el método M38-A, de la CLSI; los valores de CFM, se hallaron plaqueando 20 µL de cada tubo de la dilución en caldo sin desarrollo, del último con crecimiento visible y del control positivo y negativo. Los medios de cultivo empleados fueron: para la CIM, caldo papa glucosa, y para la CFM, agar papa glucosa. La temperatura de incubación, en ambos casos, fue de 27 ± 1 °C. Para los ensayos se utilizaron tres hongos filamentosos: *Aspergillus niger* ATCC 16404 y dos cepas de *Cladosporium cladosporioides* (A y B), aisladas a partir de lesiones en hojas de tomate, similares a las causadas por *Passalora fulva*, en cultivos bajo invernadero en la provincia de Corrientes, Argentina. Con la finalidad de cotejar los resultados obtenidos para los compuestos sintetizados, también se ensayaron tres productos comerciales: Ridomil Gold 68WG, Daconil 72F y Amistar Top, todos elaborados por Syngenta Agro S.A. Para *C. cladosporioides* (A) los valores hallados, en µg/mL, fueron: G1 (CIM y CFM 32), G2 y G3 (CIM >64), Ridomil Gold 68WG (CIM 8, CFM 32), Daconil 72F (CIM 0.5, CFM 1), Amistar Top (CIM y CFM 0.125). Para *C. cladosporioides* (B) los resultados fueron: G1 (CIM y CFM 32), G2 y G3 (CIM >64), Ridomil Gold 68WG (CIM y CFM 8), Daconil 72F (CIM 0.25, CFM 1), Amistar Top (CIM >64). Por último, *Aspergillus niger* ATCC 16404 arrojó los siguientes valores: G1, G2 y G3 (CIM >64), Ridomil Gold 68WG (CIM 64, CFM >64), Daconil 72F (CIM 1, CFM 4), Amistar Top (CIM 8, CFM >64). En conclusión, se destaca el desempeño del principio activo G1, disuelto en agua y sin excipientes y/o sinérgicos, lo que lo vuelve de especial interés para futuros ensayos, in vivo, en cultivos de tomate bajo cubierta. Los compuestos G2 y G3 no reflejaron un valor de CIM en el rango de concentraciones utilizado (0.03125 - 64 µg/mL).

Antibiofilm activity of *Rynchosya precatorea* extract and its compounds against *Mycobacterium smegmatis*

Esmeralda Ivonne Niño Padilla¹, Adriana Garibay Escobar¹

(1) Universidad de Sonora, Departamento de Ciencias Químico Biológicas, División de Ciencias de la Salud, Blvd. Luis Encinas y Rosales S/N, Hermosillo, México

Biofilms are heterogeneous and highly organized microbial communities. Microorganisms embedded in these self-produced matrices are a reservoir for drug tolerance and resistance, and the immunological mechanisms to eliminate them are frequently surpassed. Therefore the development of new biofilm inhibitors or disruptors is considered as an alternative for novel treatment schemes. *Mycobacterium* genus members are recognized for being in vitro biofilm-producers, moreover, some studies have demonstrated non tuberculous mycobacteria (NTM) are able to generate in vivo biofilms. *M. smegmatis* is a saprophytic specie frequently used as a model for molecular and biochemical studies for rapidly-growing NTM and *M. tuberculosis*. In this study, we assessed the potential anti-biofilm activity of *Rynchosya precatorea* extracts and its compounds against *M. smegmatis*. Bacterial suspensions (*M. smegmatis* CDC1551) were adjusted to McFarland Standard no. 1 and diluted with 7H9/ OADC 10% to 12×10^6 cells/mL. Cells were cultured in 96 well plates under different treatments: *R. precatorea* extract and its compounds (Precatorin A, Precatorin B, Cajanone, Lupinifolin), and gentamicin, at MIC over planktonic cells. Biofilm formation was assessed by the Quantitative Crystal Violet Staining Technique ($\lambda=570\text{nm}$) and visual inspection. Results showed *M. smegmatis* developed air-liquid interface biofilms at 48 hours, and began disaggregate at 96 hours. Co-culturing of bacteria with *R. precatorea* extract was able to inhibit biofilm formation at MIC, while the individual compounds did not. Moreover, individual compounds were able to induce differential morphologic features, whether in its individual form or double-combined, which reflects the diversity of action mechanisms. Finally, experiments with triple-combined compounds indicated Precatorin A and Cajanone were responsible for the anti-biofilm activity of the *R. precatorea* extract, at subinhibitory concentrations. We conclude *R. precatorea* extract anti-biofilm activity is due the presence of Precatorin A and Cajanone compounds, possibly as a result of an additive or synergic effect. These findings indicate both compounds might be suitable candidates for further deciphering of their anti-biofilm potential, as well as the unveiling of mechanisms by which mycobacteria are able to accomplish biofilm formation.

Financing: This work was financed by Universidad de Sonora.

Antifungal activity of Myrtaceae species extracts against dermatological clinical isolates

Daiane Heidrich^{1,2}, Fernanda Fensterseifer³, Bárbara Buhl², Talita Scheibel⁴, Lucélia Hoehne², Eduardo Miranda Ethur^{2,5}, Elisete Maria de Freitas^{2,6}

(1) Universidade do Vale do Taquari - Univates, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

(2) Universidade do Vale do Taquari - Univates, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

(3) Universidade do Vale do Taquari - Univates, Biomedicina, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

(4) Universidade do Vale do Taquari - Univates, Farmácia, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

(5) Universidade do Vale do Taquari - Univates, Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

(6) Universidade do Vale do Taquari - Univates, Programa de Pós-Graduação em Sistema Ambientais Sustentáveis, Avenida Avelino Talini, 171, Lajeado, Rio Grande do Sul, CEP: 95914-014, Lajeado, Brazil

It is estimated that 25% of the world population have cutaneous mycoses, which are fungal infections that affect the skin, nails and hair. Dermatophytoses represent about 60% of cutaneous mycoses and the main fungus involved is *Trichophyton* spp. *Fusarium* is the main genus associated with cutaneous mycoses caused by non-dermatophyte filamentous fungi. Sporotrichosis, caused by species of the *Sporothrix schenckii* complex, and chromoblastomycosis, caused mainly by *Fonsecaea pedrosoi*, are the most prevalent subcutaneous mycoses in Brazil. Due to the prevalence, the high costs of treatment, necessarily tests for liver controls, drug interactions and resistance to known antifungal agents, the search for new effective and cost-effective treatments should be encouraged. Thus, the use of plants as a source of new antimicrobials has been addressed. However, the literature does not mention the evaluation of the antifungal potential of several species native to southern Brazil, such as those of the Myrtaceae family (*Eugenia*, *Psidium* and *Campomanesia*). The objective of this work was to evaluate the antifungal potential of aqueous extracts of *Eugenia arenosa*, *Eugenia pitanga*, *Psidium salutare* var. *sericeum* and *Campomanesia guazumifolia* against clinical isolates of *Trichophyton interdigitale*, *Fusarium oxysporum*, *S. schenckii* sensu stricto and *F. pedrosoi*. For this purpose, dry leaves of *C. guazumifolia* were collected in the city of Lajeado, Rio Grande do Sul State, Brazil (Mata Atlântica biome) and leaves of other plants were collected in Alegrete, in the same State (Pampa biome), and subjected to aqueous infusion for one hour, filtration and evaporation. A clinical isolate of each fungus, in duplicate, previously identified by DNA sequencing, was evaluated. To analyze the antifungal potential, the broth microdilution method was performed according to the Clinical & Laboratory Standards Institute protocol M38-A2, determining as the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) the lowest concentration that inhibited 100% of fungal growth. Cell viability control of each isolate and control with itraconazole were performed and obtained the expected results. The lowest MICs obtained were from extracts against *S. schenckii*, with MIC less than 15.6 µg/mL for *E. pitanga*; 62.5 µg/mL for *E. arenosa*; and 31.2 µg/mL for the other extracts. Against *T. interdigitale*, MIC of *E. arenosa* was 250 µg/mL, while the other extracts obtained MIC equal to 125 µg/mL. As for *F. oxysporum* and *F. pedrosoi* isolates, the crude extracts were not considered active, since they had high MICs, ranging between 2 and 4 mg/mL. Thus, the aqueous crude extracts were active against the most frequent fungi causing the most prevalent cutaneous and subcutaneous mycoses in Brazil, dermatophytosis and sporotrichosis, evidencing their potential as antifungal and presenting alternatives for the treatment of these infections.

Financing: Univates

Efecto de mezclas sinérgicas de fracciones de aceites esenciales de *Lippia alba* sobre la respuesta inmune de ratas Wistar crónicamente infectadas por *Trypanosoma cruzi*

Denerieth Ximena Espinel Mesa¹, Clara Isabel González Rugeles³, Julio César Mantilla Hernández⁵, Elena Stashenko², Carlos Andrés Villegas Lanau⁴, John Jaime Quimbaya Ramírez¹, Liliana Torcoroma García Sánchez¹

(1) Universidad de Santander, Maestría en Investigación en Enfermedades Infecciosas, Ciencias de la salud, Calle 70 N° 55-210, Bucaramanga, Colombia

(2) Universidad Industrial de Santander, CENIVAM, Escuela de Química, Carrera 27, calle 9 Ciudad Universitaria, Bucaramanga, Colombia

(3) Universidad Industrial de Santander, Escuela de Microbiología, Facultad de Salud, Carrera 32 # 29-31, Bucaramanga, Colombia

(4) Universidad de Antioquia, Grupo de Neurociencias de Antioquia, Neurobanco, Sede de Investigación Universitaria SIU Calle 62 No. 52 - 59, Medellín, Colombia

(5) Universidad Industrial de Santander, Departamento de Patología, Facultad de salud, Carrera 32# 29-31, Bucaramanga

La cardiomiopatía dilatada es la manifestación clínica más relevante en la fase crónica de la Enfermedad de Chagas, siendo uno de los principales problemas de salud pública, en países endémicos. Los tratamientos actuales (Benznidazol (BNZ) y Nifurtimox), son tripanocidas e ineficientes para la enfermedad crónica, cuya génesis subyace en la presencia del parásito y una respuesta inmune exagerada acompañada de estrés oxidativo persistente. Esto hace perentorio la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, que aborden la complejidad de la etiopatogenia de la enfermedad cardíaca. Resultados previos de nuestro grupo evidenciaron acción tripanocida selectiva y cardioprotección *in vitro* e *in vivo* para aceites esenciales (AEs) de *Lippia alba*. Estas bioactividades fueron adscritas a sus terpenos mayoritarios (limoneno y óxido de cariofileno (OCN)). Así, en este estudio se determinó en modelo experimental de Cardiomiopatía Chagásica Crónica (CCC), en ratas Wistar, el potencial antioxidante e inmunomodulador de mezclas sinérgicas de fracciones de AEs de *L. alba* enriquecidas en sus terpenos bioactivos. Para esto, fueron estudiados cinco grupos, de seis animales: dos controles, negativo (no infectado, no tratado) y positivo (infectado, no tratado); y tres experimentales [LIMOX (infectado, tratado con AE enriquecido en limoneno y OCN), LIMOXBNZ (infectado, tratado con LIMOX+BNZ); y BNZ (infectado, tratado con BNZ)]. Los grupos infectados fueron inoculados con tripomastigotes metacíclicos de *Trypanosoma cruzi*, y llevados a fase crónica. Los tratamientos fueron administrados oralmente, en 31 dosis diarias. Datos clínicos, de toxicidad (anatomopatológicos, hematológicos y bioquímicos), inmunohistoquímicos (IFN- γ , TNF- α , IL-4 e IL-10), de estrés oxidativo (iNOS) y parasitológicos (qPCR) en tejido cardíaco, fueron colectados. Los resultados confirman que, los fitoterapéuticos estudiados presentaron actividad anti-inflamatoria (aumentando IL-4 y disminuyendo TNF- α), tripanocida (similar a BNZ), cardioprotectora (previniendo y revirtiendo la progresión del daño cardíaco), e inmunomoduladora (incrementando IFN- γ y manteniendo los niveles de IL-10). Estos resultados son inéditos en la literatura científica.

Financing: Convocatoria 778 de 2017 Colombia Científica BioReto XXI 15:50; ICETEX; UDES; COLCIENCIAS; Banco Mundial; UIS.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE *Argemone subfusiformis* "CARDOSANTO" PAPAVERACEAE

Ricardo Alfredo Julian Leon-Vasquez¹, Irmia Paz¹

(1) Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Departamento de Microbiología y Patología, Facultad de Medicina, Arequipa, Perú

Introducción. *Argemone subfusiformis* "Cardo Santo" es una planta de la familia Papaveraceae con aplicación microbiológica y farmacológica poco aprovechada. **Objetivo.** El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana y antifúngica del extracto Acuoso, Alcohólico y Hexánico de *Argemone subfusiformis* Papaveraceae. **Método.** Se realizó un diseño experimental factorial haciendo uso de los tres extractos mencionados y los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*, los cuales fueron sometidos a concentraciones medias sucesivas de los extractos. **Resultados.** Se determinó actividad antibacteriana contra gram positivos en el extracto Alcohólico y concentraciones de 100% y 50%, para gram negativos se tuvo efecto de los extractos alcohólico y hexánico con concentraciones que llegaban al 25% de la concentración inicial, y en *Candida albicans* fueron efectivos el extracto alcohólico y hexánico con concentraciones hasta el 25% de su concentración inicial. **Conclusiones.** Los extractos alcohólicos con el 100% de la concentración de *Argemone subfusiformis* fueron capaces de inhibir el crecimiento de bacterias gram negativas, positivas y levaduras.

Effect of an antimicrobial peptide analog from wasp, MK58911-NH2, on *Cryptococcus neoformans* cells in biofilm, macrophage, and zebrafish model

Junya Singulani^{1,3}, Lariane Oliveira¹, Marina Ramos¹, Nathália Fregonezi¹, Paulo Gomes¹, Mariana Galeane¹, Mario Palma², Ana Marisa Fusco-Almeida¹, Maria José Mendes-Giannini¹

(1) São Paulo State University-UNESP, Department of Clinical Analysis, School of Pharmaceutical Sciences, Araraquara, Brazil

(2) São Paulo State University-UNESP, Department of Basic and Applied Biology, Institute of Biosciences, Rio Claro, Brazil

(3) *Present Institution: Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil

Cryptococcosis is associated with high rates of morbidity and mortality, especially in AIDS patients. Its treatment is carried out by the combination of amphotericin B and azoles or flucytosine, which cause unavoidable toxicity issues to the host. Thus, the urgency in obtaining new antifungals drives the search for antimicrobial peptides (AMPs). Previously, we demonstrated that AMP analog from wasp, MK58911-NH2, causes membrane damage in *C. neoformans* cells and has in vivo antifungal efficacy in the *G. mellonella* wax moth model. The present study aimed to extend the understanding of the mechanism of action of MK58911-NH2 on *Cryptococcus neoformans*. For this, we used calcofluor white and 18b7 antibody to bind to cell wall and capsule, respectively. We also verified the cells size from India ink-stained samples. It was evaluated if MK58911-NH2 can act on cryptococcal cells in J774 macrophages, biofilms, and an immersion zebrafish model of infection. The results demonstrated that MK58911-NH2 did not directly act in the cell wall or capsule of *C. neoformans*. However, it reduced the number and size of fungal cells probably as a consequence of membrane damage. Furthermore, the peptide showed an antifungal effect on the biofilm formation and mature biofilm. Finally, MK58911-NH2 reduced the fungal burden of *C. neoformans* in macrophages and in chorion of zebrafish embryos. In summary, the results showed that peptide MK58911-NH2 could be a promising agent against *cryptococcosis*.

Financing: Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) [Grant Numbers 2017/06658-9 and 2016/16212-5] and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Efecto de derivados de Quinoxalinas 1,4-di-N-óxido sobre la expresión de genes de la glicólisis de *Entamoeba histolytica*

Angel López¹, Esther Ramírez Moreno¹, Laurence Marchat Marchau¹, Gildardo Rivera Sánchez², Rodolfo Ávila Bonilla¹, Emma Cecilia Saavedra Lira³, Elia Rusely Encalada Oregon³, Gilberto Mandujano Lázaro¹

(1) Instituto Politécnico Nacional, Posgrado, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Cd México, CD Mx, Mexico

(2) Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica, Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Reynosa, México, Tamaulipas, México

(3) Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, . Departamento de Bioquímica, Bioquímica, Cd Mx, México, Mexico

La amibiasis es una parasitosis causada por el parásito protozoario *Entamoeba histolytica*, esta parasitosis es relevante en países en vías de desarrollo y México es considerado zona endémica de esta enfermedad. El tratamiento actual recomendado contra la amibiasis es a base de metronidazol, sin embargo su uso se asocia a diversos efectos secundarios, por lo cual es necesaria la búsqueda de nuevos fármacos anti amebianos. Estudios recientes analizando la actividad anti amebiana de una serie de quinoxalinas 1,4-di-N-óxido 7-carboxilato, demostraron que los compuestos denominados T-001 y T-017 poseen características prometedoras, siendo 2 y 3 veces más selectivos que el fármaco de referencia metronidazol, presentan una mejor IC50 y causan, entre otros efectos, la sobre expresión de la piruvato fosfato dicinasa (PPDK), enzima clave en la glicólisis de la amiba. A fin de contribuir en la caracterización del efecto antiamebiano de estos compuestos, en el presente trabajo se evaluaron cambios en la expresión de los genes que codifican para las enzimas de la vía glicolítica fosfofructocinasa dependiente de pirofosfato (PPI-PFK), piruvato fosfato dicinasa (PPDK) y piruvato ferredoxina óxido reductasa (PFOR). Los trofozoítos de amiba se incubaron durante 48 h con las IC50 de cada compuesto, se extrajo el RNA y se evaluó su expresión por RT-PCR cuantitativa. Se encontró que los compuestos producen en general un patrón de sobre expresión del mensajero para cada uno de los genes evaluados, a excepción de PFOR para el compuesto T-017, en donde no hubo efecto; además ambos compuestos producen diferente grado de sobreexpresión en estos genes, lo cual podría estar relacionado con las diferencias estructurales que existen entre ellos. Se concluye que las quinoxalinas 1,4-di-N-óxido-7-carboxilato T-001 y T-017 causan la sobreexpresión de los genes de PPI-PFK y PPDK, mientras que PFOR se sobre expresa por efecto de T-001, en trofozoítos de *E. histolytica*.

Financing: Este proyecto fue apoyado por CONACyT- Mexico

CONTROL DE CALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

DESEMPEÑO DE LABORATORIOS PUBLICOS Y PRIVADOS EN LA IMPLEMENTACION DEL DIAGNOSTICO MOLECULAR DE SARS-COV-2

Maria José Ortega¹, Maria Liz Bobadilla¹, Andrea Gomez de la Fuente¹, Shirley Villalba¹, Guadalupe Cantero¹, María Liz Gamarra¹, María Elena Zorrilla¹, Cynthia Vázquez¹, Carolina Aquino¹

(1) Laboratorio Central de Salud Pública, Asunción, Paraguay

INTRODUCCION Desde el comienzo de la pandemia de COVID-19, los laboratorios han utilizado pruebas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (rRT-PCR), para detectar el SARS-CoV-2, agente etiológico de la enfermedad. Ante la detección del 1er caso en el país, el LCSP ha acompañado a todos los laboratorios públicos y privados en la implementación de pruebas moleculares para el diagnóstico del SARS-CoV-2. De tal manera, siendo el LCSP centro de referencia del país a través de su Programa de Evaluación Externa de la Calidad, ha preparado el Panel de Evaluación Externa para el Diagnóstico Molecular del SARS-CoV-2 con el objetivo de medir la competencia de los laboratorios en la realización de las pruebas moleculares para el diagnóstico de COVID-19.

MATERIALES Y METODOS El panel de evaluación consistió en una serie de viales de una suspensión de células en solución salina o medio de transporte viral procedentes de muestras respiratorias (hisopados nasal y faríngeo). Las muestras del panel fueron testadas previamente para la detección de ARN del SARS CoV-2 por rRT-PCR, basado en metodologías de referencia recomendadas por OPS/OMS; que fueron enviadas bajo estrictas normas de bioseguridad, acompañadas de las instrucciones a seguir y planilla para llenado de los resultados. El panel fue entregado a 43 laboratorios estratégicamente distribuidos en todo el país, de mayo/2020 a junio/2021. Considerando las diferentes plataformas disponibles en el mercado, el 47% (20/43) de los laboratorios participantes utilizó reactivos de la marca SARS-CoV-2 VIASURE Real-Time-PCR Detection Kit (CerTest-Biotec); 14% (6/43) Xpert-Xpress SARS-CoV-2 (Cepheid Inc.); 7% (3/43) LightMix® Modular E-gene and RdRP-gene kit (TIB-Molbiol); 7% (3/43) STAT-NAT COVID-19 MULTI SENSITEL DIAGNOSTICS; 5% (2/43) Seegene-Allplex 2019-nCoV (SARS-CoV-2); 5% (2/43) Genesig Primer Design Real-Time Detection Kit for 2019 nCoV; 5% (2/43) RIDA®GENE SARS-CoV-2 test (R-BIOPHARM); 2% (1/43) ILAMP NOVEL COVID-19 Detection Kit (Ionebio, Inc); 2% (1/43) PowerChek 2019-nCoV Real-Time-PCR Kit (KogeneBiotech); 2% (1/43) PerkinElmer y 5% (2/43) no reportaron información sobre el reactivo utilizado.

RESULTADOS Se obtuvo retorno del 100% (43/43) de los laboratorios participantes. El 60% (26/43) obtuvo una concordancia del 100%; el 12% (5/43) una concordancia del 95%, el 14% (6/43) una concordancia del 90%, el 7% (3/43) una concordancia del 85%, y el 7% (3/43) una concordancia del 80%, en relación a los resultados del laboratorio de referencia.

CONCLUSION Este programa ha permitido habilitar laboratorios en todo el país, mediante un control adecuado estandarizado basado en metodologías de referencia recomendadas por OPS/OMS. Han sido evaluados tanto los laboratorios privados como los públicos, donde finalmente han sido autorizados para la implementación del diagnóstico molecular de SARS-CoV-2, sólo aquellos que han obtenido niveles de concordancia iguales o superiores al 80%. Mediante la implementación del diagnóstico molecular de SARS-CoV-2 en los laboratorios distribuidos en diferentes regiones del país, se pudo ver un crecimiento en el componente laboratorial en el sistema de vigilancia desde el inicio de la pandemia hasta hoy siendo una herramienta indispensable para dar una mejor respuesta y poder monitorear la circulación del virus en nuestro país

Financing: Ministerio de Salud Publica y Bienestar Social

Control de calidad en micología de la cualificación a la cuantificación de la prueba “Tinta china”.

John Handee Guzmán Gómez¹, José Luis Rodas Restrepo¹, Clara María Duque Restrepo¹, Claudia Maria Cuervo Araque¹, Ivan Leonardo Mojica², **Juan Carlos Gómez Velásquez**²

(1) Colegio Mayor de Antioquia, Antioquia, Ciencias de la salud, Carrera 78 #65 - 46, Medellín, Colombia

(2) Laboratorio clínico SYNLAB.S.A.S, Antioquia, Calle 19A #44-25, Torre salud y servicios, Clínica del Prado, Ciudad del Río, Medellín, Colombia

Objetivo: Implementar una metodología cuantitativa, que permita una evaluación en el tiempo más precisa y detallada de la prueba “tinta china”. **Materiales y metodos:** Se realizaron dos niveles de control; a) Suspensión de células capsuladas de *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*, en formalina y ajustado a un volumen de 2 ml en concentración 1.0 de McFarland. b) *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* capsulado y *Rhodotorula mucilaginosa*, con formalina, ajustado a un volumen de 2 ml en concentración 2.0 McFarland. Ambas cepas identificadas por EM MALDI-TOF. Posteriormente se realizó una validación del procedimiento estadístico con la herramienta Minitab versión 17. Los gráficos \bar{x} -R fueron usados con dos operarios, un experto y otro en formación, incluidos ambos niveles de control. Los recuentos se realizaron en cámara de Neubauer por duplicado durante un periodo de treinta días. La visualización de la cápsula se logro con una dilución de tinta china 1:16. Posterior a la graficación de los datos usando la herramienta Minitab versión 17. Los recuentos del experto fueron utilizados para generar un gráfico de Levey jennings, y los pertenecientes al operario en formación fueron graficados, para determinar la consistencia o variabilidad del proceso. **Resultados:** El análisis de los gráficos \bar{x} -R en ambos técnicos por separado, mostro consistencia sin variabilidad excesiva. Algunas fluctuaciones importantes fueron observadas, lo cual no impido la aprobación de la validación por método estadístico. Sumado a los valores de $p > \alpha$ (ie > 0.05), indicando que no existen diferencias estadísticamente significativas, y demostrando así que el análisis de los resultados intra observador fueron apropiados. No obstante, el análisis entre observador arrojó valores de $p < \alpha$ que expresaron diferencias estadísticamente significativas. Los gráficos de Levey jennings muestran un excelente comportamiento para el nivel (b), a diferencia del nivel (a) donde se observaron alarmas -3DS, 10x y 3: 1S. **Conclusiones:** Los controles de calidad de naturaleza cuantitativa son importantes, permitiendo realizar un seguimiento exhaustivo en el tiempo, estos controles ejecutados en micología permitirían vigilar procesos, como es el caso de las coloraciones. Finalmente, el método de recuento celular en cámara de Neubauer junto a los gráficos estadísticos, demuestra que el ensayo cumple con las características de desempeño adecuado para las mediciones analíticas requeridas.

Financing: Laboratorio clínico SYNLAB. Institución universitaria Colegio Mayor de Antioquia



ALAM 2021

IX CONGRESO NACIONAL DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

SALUD PÚBLICA

EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO DE PRUEBAS SEROLÓGICAS INMUNOCROMATOGRÁFICAS PARA COVID-19

María Liz Bobadilla¹, María José Ortega¹, Cynthia Vázquez¹, Shirley Villalba¹, Lucía Cristaldo¹, Eva López¹, Fabián Flores², Verónica Villagra¹, Graciela Gómez¹, Odalis García¹, Carolina Aquino¹

(¹) Laboratorio Central de Salud Pública - LCSP

(²) Hospital Regional de CDE

En enero de 2020, se identificó al SARS-CoV-2 como agente etiológico de casos de neumonía grave en Wuhan, China y definido como causante de la Enfermedad por Coronavirus-19 o COVID-19. El brote se extendió rápidamente a otros países de Asia; así como a otros continentes como Europa, América e incluso África. Las pruebas moleculares basadas en la RT-PCR en tiempo real (rRT-PCR) en muestras respiratorias constituyen el estándar de oro para diagnosticar esta enfermedad. Actualmente, se ofrecen en el mercado mundial ensayos serológicos basados en la detección de anticuerpos específicos anti-SARS-CoV-2. Sin embargo, en los primeros días de una infección, cuando la respuesta inmune aún se está desarrollando, es posible que no se detecten anticuerpos, lo que limita la efectividad de la prueba para diagnosticar COVID-19 y explica por qué no debe usarse como única base para diagnosticar esta enfermedad. **OBJETIVO.** Evaluar el desempeño de pruebas serológicas para detección de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 utilizando sueros de pacientes en diferentes estadios de la enfermedad. **MATERIALES Y METODOS.** Estudio observacional descriptivo con muestreo de corte transversal de pruebas diagnósticas. Se consideró como prueba de referencia la detección de ARN del SARS-CoV-2 por rRT-PCR en muestras respiratorias, basada en la metodología de referencia recomendada por OPS/OMS. El panel estaba compuesto por 155 sueros; 103 especímenes positivos, provenientes de pacientes cuyas muestras respiratorias resultaron positivas para SARS-CoV-2 por rRT-PCR; 28 especímenes negativos, provenientes de pacientes cuyas muestras respiratorias resultaron negativas para SARS-CoV-2 por rRT-PCR; y 24 muestras de sueros positivos para otros virus como Dengue, Zika y Chikungunya, recogidos antes de la pandemia y almacenados en el LCSP. Los ensayos inmunocromatográficos evaluados fueron NOVA-Test (IgG/IgM); ORIENT GENE BIOTECH (IgG/IgM), WIZ BIOTECH (IgG/IgM), CareStart™-ACCESSBIO (IgM/IgG), SD-BIOSENSOR (IgG/IgM), GENRUI-BIOTECH (IgG/IgM), BIOSYNEX (IgG/IgM), AVIOQ (IgG/IgM) y Wantai (Anticuerpos Totales). **RESULTADOS.** Las pruebas serológicas estudiadas presentaron una concordancia de positivos para anticuerpos tipo IgM comprendida entre 26–61% y para anticuerpos tipo IgG entre 28–85%. La concordancia de positivos más negativos para IgM estuvo entre 51–74%, y para IgG entre 52–87%. Se observó mayor detección cuando se combinaron los resultados de IgM e IgG. Entre las muestras de individuos con rRT-PCR positivas para SARS-CoV-2, el porcentaje de seropositivos aumentó con el intervalo de tiempo. Con respecto a la posible reactividad cruzada con otros virus, 44% de las pruebas evaluadas dio por lo menos un falso positivo con Dengue; y 11% dio por lo menos un falso positivo con Zika. **CONCLUSIÓN.** Este estudio describe el desempeño de nueve pruebas serológicas inmunocromatográficas para COVID-19. Las pruebas serológicas podrían resultar válidas para estudios de seroprevalencia poblacional e investigaciones epidemiológicas, Sin embargo, la utilidad de estas pruebas es limitada como única herramienta de diagnóstico porque puede dar lugar a una gran proporción de falsos negativos. Los mejores rangos de detección se observan en pacientes con más de 2 semanas de evolución de la enfermedad.

PREVALENCIA BASAL TIPO-ESPECÍFICA DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO (VPH) EN MUJERES JÓVENES NO VACUNADAS CONTRA EL VPH

MARIA LIZ BOBADILLA¹, Verónica Villagra¹, Gladys Olmedo¹, Pablo Pratts¹, Rocío Violeta Ortiz¹, Gerardo Deluca³, Vanessa De Paula²

(1) LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA – MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y BIENESTAR SOCIAL, Inmunología, Asunción, Paraguay

(2) INSTITUTO OSVALDO CRUZ - FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil

(3) UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE, FACULTAD DE MEDICINA, Argentina

La medición del impacto de la vacunación sobre la prevalencia de VPH en las mujeres jóvenes sexualmente activas es un objetivo razonable y practicable a corto plazo para el monitoreo de la inmunización contra el VPH y podría ayudar a predecir mejor el posterior impacto sobre las lesiones precancerosas y el cáncer de cuello uterino (CCU). Aunque la vacunación masiva tendría capacidad de reducir las prevalencias de los tipos virales incluidos en la fórmula, ha surgido preocupación en relación al potencial reemplazo de tipos. Si bien es poco probable que un reemplazo de genotipos pueda ocurrir luego de la vacunación, sólo la vigilancia virológica tipo-específica durante varios años después de su introducción, proveerá la información necesaria para determinar si este evento ha sucedido. Adicionalmente, la evaluación del impacto de la inmunización contra VPH16/18 sobre otros tipos virales de alto riesgo, particularmente cualquier protección cruzada contra tipos virales relacionados a los vacunales, será importante para tomar decisiones vinculadas a políticas de vacunación y estrategias de tamizaje cervical. Quedando claro que estudios de vigilancia virológica son necesarios para conocer el impacto de la vacunación contra VPH sobre la epidemiología de esta infección en una comunidad. Como paso inicial, se requiere contar con datos basales que permitan estimar prevalencias de distintos tipos de VPH en mujeres jóvenes sexualmente activas, no inmunizadas, para compararlos con los que se obtengan en una población similar, pero incluida en la vacunación. **OBJETIVO** El presente estudio tiene por objetivo determinar la prevalencia tipo-específica del VPH en mujeres de 18-25 años, sexualmente activas, no vacunadas contra el VPH por el Programa Ampliado de Inmunizaciones del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. **RESULTADOS** Fueron incluidas 151 mujeres entre 18-25 años, promedio de 22±2 años. Se encontraron 86 casos positivos de VPH con una prevalencia global de 56,9%. Infección por un único genotipo se vio en el 51,2% de las mujeres que dieron positivo para VPH. Entre las infecciones múltiples (48,8%), en el 71,4% se encontraron dos tipos virales; en el 16,7% tres tipos virales; y en el 11,9% más de tres tipos virales. Fueron identificados 29 genotipos diferentes. En el 42,4% de las mujeres incluidas en el estudio, se identificó por lo menos un genotipo de VPH-AR. El VPH-AR identificado con mayor frecuencia, fue VPH-58 (18,6%), seguido de VPH-16 y VPH-51 con el 12,8% cada uno. Con relación a los genotipos de bajo riesgo, los más frecuentes fueron VPH-6 (44,4%) y el VPH-81 con 9,3% cada uno. **CONCLUSIONES** Los resultados obtenidos con la ejecución de este proyecto constituyen los primeros datos sobre la prevalencia de los distintos tipos de VPH en mujeres de 18-25 años, sexualmente activas, que no recibieron la vacuna contra el VPH dentro del esquema de vacunación del Programa Ampliado de Inmunizaciones. Esto representa la línea basal de prevalencia tipo-específica con la cual comparar las mediciones post-vacunales.

Financing: MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y BIENESTAR SOCIAL Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACYT

NUEVAS TECNOLOGÍAS

Urolitiasis en niños paraguayos: composición por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) de los cálculos de 96 casos

ROSA MARIA GUILLEN FRETES^{1,2}, Arminda Gimenez¹, Patricia funes¹, Dominich Granado¹, Lourdes Rivas¹, Liliana sosa¹, Irene Ruiz¹, Gloria Echague¹, Esteban Ferro²

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Campus Universitario, Paraguay

(2) Cátedra de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

La litiasis urinaria ha aumentado su frecuencia en población pediátrica en los últimos años. Las elevadas tasas de recidivas propias de esta patología hacen que el diagnóstico y tratamiento específico sean cruciales. La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) constituye la metodología de referencia para el análisis de los cálculos urinarios, por su elevada sensibilidad y capacidad de identificación precisa e inequívoca de los compuestos presentes, permitiendo asociar la composición a causas específicas mediante criterios de clasificación internacionalmente validados. Objetivos: Determinar la composición de cálculos urinarios de niños paraguayos que concurren al IICS del 2006 al 2019, mediante análisis espectral de FTIR. Metodología: En este estudio observacional, descriptivo de corte trasverso, analizamos espectralmente por FTIR 104 cálculos urinarios correspondientes a episodios únicos y múltiples, provenientes de 96 niños de hasta 15 años de edad. Para el análisis comprimimos la muestras en pastillas de KBr, midiendo su absorbancia en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} . Los espectros obtenidos fueron comparados con los de patrones para determinar la composición de los cálculos. Resultados: De los 96 pacientes, 58 fueron niños y 38 niñas. Seis pacientes presentaron recidivas y aportaron 14 cálculos. La localización más frecuente de cálculos fue la renal (55%, $n=53$), el modo de eliminación más común fue la cirugía (50%, $n=48$). El 30% de los cálculos presentó un solo componente y el resto consistió en cálculos mixtos. Los cálculos de oxalato de calcio representaron más del 60% de las muestras, en forma de wedellita en el 37,5% y como whewhellita en el 27,1%, respectivamente. Compuestos como cistina y xantina, marcadores de litiasis genéticas, se detectaron en el 2% de los casos. Conclusión: El predominio de la litiasis de oxalato de calcio en niños señala el posible rol de factores metabólicos como la hipercalciuria, hiperoxaluria, hipocitraturia e hipomagnesiuria como objetivos del control terapéutico para evitar recidivas y daños renales. El uso del FTIR permitió la identificación precisa de compuestos poco frecuentes y marcadores de litiasis de origen genético.

Financing: El proyecto marco PINV18-451 ha sido financiado por el CONACYT

Desarrollo de nanopartículas poliméricas cargadas con el flavonoide quercetina a base de distintos polímeros Eudragit®: Efecto en el tamaño y encapsulación.

Joel Horacio Elizondo Luévano¹, Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis³, Juan Gabriel Báez González², Alejandra Pacheco Ordaz¹, Raymundo Alejandro Pérez Hernández¹, Rocío Castro Ríos³, Abelardo Chávez Montes¹

(1) Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, México

(2) Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, México

(3) Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Química Analítica, Facultad de Medicina, Dr. José Eleuterio González, C.P. 64460, Monterrey, México

Los polímeros sintéticos Eudragit®, derivados del poli(metacrilato de metilo), se utilizan ampliamente para la administración controlada y encapsulamiento de drogas y productos con baja solubilidad acuosa como los flavonoides, siendo la Quercetina (Qr) el más común y el más utilizado del que se conocen distintos efectos beneficiosos en la prevención de un gran número de enfermedades incluso del cáncer. Sin embargo, su aplicación es limitada debido a su baja solubilidad en el agua, su alta inestabilidad y su escasa biodisponibilidad celular, la Qr posee una solubilidad acuosa extremadamente baja (2,15 - 2,63 mg/L a temperatura ambiente). La técnica de nanoprecipitación basada en el mecanismo de precipitación da lugar a la formación de nanopartículas poliméricas (NPs) o agregados poliméricos que contengan embebidos fármacos o productos con baja solubilidad y biodisponibilidad. Desde el punto de vista farmacéutico, el tamaño (T) de las nanopartículas poliméricas (NPs) es un parámetro clave en su interacción con sistemas biológicos. El objetivo principal de esta investigación fue dar una visión general de la investigación en el campo de la tecnología farmacéutica por NPs para la encapsulación de compuestos hidrofóbicos como la Qr utilizando distintos polímeros como los Eudragit® (EPO, E100, L100 y L100-55). Así como establecer la influencia de la relación en el aumento de la fase orgánica (FO), fase acuosa (FA) y cantidad de masa de polímero (M) sobre el tamaño de las NPs y el índice de poli-dispersidad (PDI) preparadas mediante el método de nano-precipitación y evaluar la citotoxicidad de los formulados en sobre eritrocitos humanos. Las NP fueron formadas a partir de polímeros derivados de ácido metacrílico y alcohol polivinílico (PVA) como tensoactivo y mediante la técnica de nano-precipitación se permitió obtener partículas con tamaños menores a 200 nm e índice de poli-dispersidad menor a 0,2 y sin efecto citotóxico estableciendo el impacto significativo ($p < 0.05$) de las variables evaluadas. Los porcentajes de encapsulación encontrados también fueron superiores al 90.55% en alguno de los formulados, estableciendo una buena opción para la administración de dicho flavonoide. A través de la microscopía electrónica de barrido (SEM) fue posible determinar la morfología esférica de las diferentes NPs. El potencial hemolítico de los polímeros se evaluó en los eritrocitos humanos, donde ninguno de los polímeros exhibió una actividad hemolítica significativa ($p < 0.001$). En conclusión, mediante la técnica de nanoprecipitación es posible preparar NPs con polímeros Eudragit® cargadas con Qr, con tamaños definidos y homogéneos. Como perspectiva se alientan a realizar futuros estudios que involucren el uso de la nano-encapsulación de productos para su administración y también muestran la necesidad de realizar más estudios que evalúen su toxicidad en células de mamíferos In-vivo.

Financing: Este estudio fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) bajo el proyecto CB176853.

Evaluación del uso actual del test prenatal no invasivo en gestantes de primer trimestre

Isabel María Portell Rigo¹, Lucía Martínez Carreras¹, Sara Martínez Martín¹, Josefa Ruiz Cara¹, Maria del Pilar Benayas Bellido¹, Cristóbal Avivar Oyonarte¹

(1) Hospital de Poniente, Área Integrada de Biotecnología, Diseminado Ctra Almerimar, 31, 04700 El Ejido, Almería, Almería, España

El test prenatal no invasivo (TPNI) se trata actualmente del método de cribado de aneuploidias más novedoso a través del aislamiento y el análisis del ADN fetal circulante en sangre materna. En nuestra zona, se realiza a todas las gestantes de primer trimestre un cribado combinado (anamnesis, bioquímica y ecografía) y si éste presenta un nivel de riesgo determinado son candidatas a que se realice el TPNI. El objetivo principal es mejorar el programa de cribado prenatal detectando, gracias a su elevada sensibilidad, el máximo número de fetos con aneuploidías posible, disminuyendo así el uso de técnicas diagnósticas invasivas como la amniocentesis o la biopsia de vellosidad corial. **Objetivo** Evaluar los resultados de los TPNI realizados en nuestro hospital desde Mayo de 2019 a Junio 2021. **Material y métodos** Se realiza un estudio observacional retrospectivo de los TPNI realizados en nuestro centro en el período indicado. Son candidatas en nuestra zona según las directrices establecidas a TPNI aquellas gestantes en el primer trimestre que presentan un riesgo de cribado entre 1/50 – 1/280 o aquellas con antecedentes de un hijo con cromosomopatía. La prueba de detección de ADN fetal circulante que se ofrece actualmente en nuestro centro es el Veriref[®] que permite la detección de las cromosomopatías más frecuentes (13,18,21) por metodología de secuenciación masiva. Los datos para poder realizar el estudio se obtienen del programa informático utilizado en el laboratorio (Modulab[®]) y de la plataforma de análisis de datos avanzada Biber Analytics[®] (Werfen). **Resultados** De un total de 7457 gestantes en el primer trimestre se ha realizado el TPNI a 210 de ellas según el protocolo establecido. De los 210 TPNI realizados: 203 presentan un resultado negativo sin alteraciones. 4 presentan un resultado positivo con alto riesgo para trisomía 21 (Síndrome de Down) 1 presenta un resultado positivo con alto riesgo para trisomía 18 (Síndrome de Edwards) 2 presentan un resultado no valorable y es necesario remitir nueva muestra. Ante un resultado de TPNI positivo, al ser un método de cribado y no diagnóstico, debe realizarse una prueba invasiva para confirmar el resultado. Se revisan las pruebas confirmatorias realizadas en los casos de alto riesgo, y de los 4 casos con resultado positivo para trisomía 21, tres de ellos son confirmados por amniocentesis y uno en restos abortivos. El caso de alto riesgo para trisomía 18 está actualmente pendiente de confirmación. Los dos casos no valorables son debido a problemas preanalíticos en la toma de muestra. **Conclusiones** La implementación del TPNI como método de cribado gracias a su elevada sensibilidad y especificidad permite una mejora en la atención de las gestantes y la disminución de la realización de técnicas invasivas innecesarias. El facultativo especialista del laboratorio tiene un papel muy importante en el asesoramiento sobre las distintas técnicas y procedimientos a realizar, especificaciones en la toma de muestra y envío al laboratorio de la misma, elaboración de informes e interpretación correcta de los resultados y comunicación de los mismos a Ginecología.

ACTUALIZACIÓN EN MARCADORES TUMORALES

Detección de la mutación de KRAS en pacientes con Cáncer Colorrectal. Primeros Resultados

Rocío Violeta Ortiz¹, Maria Liz Bobadilla Frizzola¹, Veronica Villagra¹

(1) Laboratorio Central de Salud Pública – Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Inmunología, Asunción, Paraguay

El cáncer es una de las causas principales de muerte en todo el mundo, casi 10 millones de fallecimientos en 2020; ese año, el colorrectal con 1,93 millones de nuevos casos, se encuentra en el segundo lugar de los tipos de cáncer con mayor mortalidad. En nuestro país, el cáncer colorrectal, es la segunda causa de cáncer. La relevancia del estudio de las mutaciones de KRAS en cáncer de colon, constituye un ejemplo del enfoque de los nuevos estudios de la medicina molecular en cáncer. El oncogén KRAS pertenece a una familia de genes que codifica la proteína KRAS, que es una pequeña GTPasa unida a la membrana que desempeña un papel fundamental en la transducción de señales celulares. Normalmente, KRAS existe en un estado inactivo. El KRAS mutado permanece en estado activo, lo que lleva a una pérdida de su función reguladora en los efectores posteriores y, finalmente, a la supervivencia de las células cancerosas. Las mutaciones genéticas de KRAS ocurren temprano en la progresión del adenoma colorrectal al carcinoma. La detección de mutaciones en KRAS permite determinar la respuesta a la terapia con anticuerpos anti-receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). La adición del anticuerpo monoclonal anti-EGFR (Cetuximab o panitumumab) a los regímenes de quimioterapia mejora el resultado en el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico. Se ha demostrado que la presencia de mutaciones en el exón-2 de KRAS (codón 12/13) reduce la eficacia de estos inhibidores de EGFR. Por lo tanto, estas mutaciones del exón-2 se han utilizado como biomarcadores para predecir la falta de respuesta a cetuximab y panitumumab. **Objetivo** El objetivo de este trabajo es mostrar los primeros resultados de la implementación de la detección mutaciones en el gen KRAS en el LCSP como apoyo al tratamiento del cáncer colorrectal. **Materiales y Métodos** El ensayo implementado fue COBAS- KRAS Mutation Test (Roche), que permite la identificación de las mutaciones de los codones 12, 13 y 61 del gen KRAS en el material genético obtenido de muestras parafinadas de pacientes con cáncer colorrectal. **Resultados** Se analizaron un total de 9 pacientes, 89% eran de sexo masculino, todo con diagnóstico anátomo-patológico de adenocarcinoma de colon. La edad promedio de diagnóstico fue de 56 años (rango 54-63). La mayoría de los tumores fueron clasificados como moderadamente diferenciados. En el 66,7% de los casos se identificaron mutaciones, siendo la mutación más frecuente en el codón 12/13 del gen KRAS. **Conclusión** Con la técnica implementada se pudo identificar mutaciones de en más de la mitad de los pacientes estudiados. Por lo tanto, se insta a la genotipificación del tejido tumoral (primario o metastásico) para detección de mutaciones de KRAS, y de esta manera identificar a los pacientes elegibles para la terapia dirigida a EGFR protegiendo así a los pacientes con cáncer colorrectal metastásico de los efectos secundarios indeseables y el considerable costo de una terapia ineficaz.

Financing: Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social

ACTUALIZACIÓN EN HEMATOLOGÍA

Impacto de la contaminación bacteriana en la recolección de células progenitoras hematopoyéticas y hemocomponentes.

Yair Omar Chávez Estrada¹, Dalila Marisol Alvarado Navarro¹, Ana Karen Hernández Navarro¹, Karina Elizabeth Vazquez Hernandez¹, Rosario Salazar Riojas¹, César Homero Gutiérrez Aguirre¹, David Gómez Almaguer¹
(1) Hospital Universitario. "Dr. José Eleuterio González" UANL, Hematología, Medicina, Dr. José Eleuterio González (Gonzalitos) S/N, Mitras Centro, 64460., Monterrey, Nuevo Leon, México

Uno de los riesgos presentes en pacientes que reciben transfusiones de hemocomponentes o de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) durante el trasplante autólogo o alogénico es la administración de un producto con contaminación bacteriana, incrementando la posibilidad de que se presente un evento adverso relacionado a la transfusión. Algunos factores de riesgo para la contaminación de estos productos son: tiempo de duración prolongada de los sistemas de recolección, las variaciones en los protocolos de limpieza y sobre todo con la experiencia del personal clínico de la unidad de aféresis. Con la finalidad de disminuir el riesgo de contaminación de los productos de CPH y los componentes sanguíneos recolectados para uso terapéutico, se deben reunir ciertos requisitos de calidad necesarios para que resulten inocuos o no patogénicos, funcionales y viables. Por lo cual es importante detectar los cultivos microbiológicos (CM) positivos y el origen de la contaminación para así evaluar un lineamiento estricto del control de calidad de CM de CPH y hemocomponentes. **Objetivo:** Determinar la frecuencia y origen de CM positivos en CPH obtenido de sangre periférica movilizada (SPM) y médula ósea (MO); hemocomponentes obtenidos de sangre total (ST) y aféresis (plaquetas, eritrocitos y plasma); estableciendo la importancia de la susceptibilidad y resistencia que los microorganismos presentes en las recolecciones durante el periodo estableció del estudio. **Material y métodos:** Estudio retrospectivo realizado en el Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la UANL en servicio de hematología. Se incluyeron datos de CM de 1744 procedimientos del departamento de medicina transfusional durante el periodo: enero 2013 a agosto 2020. **Resultados:** De los 1744 procedimientos revisados se observó positividad para cultivo microbiológico en 27 casos de los cuales 4 fueron en productos de recolección de células hematopoyéticas, 2 en productos plaquetarios, 1 en Concentrado Eritrocitario, 20 en Terapia celular in vitro (Médula ósea). Se identificaron 22 especies de microorganismos entre ellos; *Streptococcus* spp. *Staphylococcus* spp. *Acinetobacter* spp. *Clostridium* spp. *Micrococcus* spp. *Bacillus* spp. *Chryseobacterium* sp. *Corynebacterium* spp. *Peptoniphilus* sp. *Propionibacterium* spp. y *Salmonella* spp. De la cuales el predominio del 47.8 % (n=11) fue el genero de *Staphylococcus* spp. En la determinación de la resistencia se evaluarón un total de 20 antibioticos, siete microorganismos mostraron una mayor prevalencia en cuanto a la resistentes a Eritormicina, y Azitromicina, además de observarse resistencia al menos a 3 familias de diferentes antibacterianos. **Conclusión:** *S. epidermidis* fue el microorganismo de mayor frecuencia perteneciente a la microbiota de la piel. La presencia de ciertas bacterias hacen un llamado de emergencia en el seguimiento y desinfección del personal clínico como a las áreas de proceso. La resistencia en el transcurso de los años se vió aumentada permitendonos reflexionar sobre el uso de antibioticos, incorporando nuevas delimitantes y protocolos a la profilaxis post-trasplante para un mejor manejo en de las unidades recolectadas.

Sistema sanguíneo ABO y su relación con enfermedades hematológicas y no hematológicas.

Maria Isabel Villa Palacio¹, Claudia María Cuervo Araque², Karime Rodríguez Palacios³

(1) Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Estudiante, Facultad Ciencias de la Salud, Carrera 78 # 65 - 46 Bloque Patrimonial - Piso 1., Medellín, Colombia

(2) Institución universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Docencia, Ciencias de la Salud, Carrera 78 # 65 - 46 Bloque Patrimonial - Piso 1., Medellín, Colombia

(3) Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Ciencias de la Salud, Carrera 78 # 65 - 46 Bloque Patrimonial - Piso 1., Medellín, Colombia

El sistema sanguíneo ABO fue descubierto por Karl Landsteiner hace más de 100 años y sigue siendo el más importante desde el punto de vista inmunohematológico. Está compuesto por los antígenos A y B, que dan origen a cuatro tipos de grupos sanguíneos, determinados por el gen ABO ubicado en el cromosoma 9, posee tres alelos A, B y O que determinan la especificidad de la enzima para la cual codifican. Estas enzimas catalizan la adición de sus residuos al antígeno H que actúa como precursor, dando origen a los antígenos específicos así: el alelo A codifica para la enzima transferasa A, que cataliza la adición de un residuo de N-acetilgalactosamina (GalNac), formando el antígeno A; el alelo B codifica para la enzima transferasa B, que adiciona un residuo de D - Galactosa (Gal) originando el antígeno B; finalmente el alelo O presenta la delección de una guanina (G) que ocasiona un cambio en el marco de lectura y se produce una proteína sin actividad transferasa. La importancia clínica de este sistema se extiende más allá de los procesos transfusionales, aparentemente está involucrado en la fisiopatología de varias enfermedades, como cáncer, infecciones, alteraciones cardiovasculares, entre otras. El presente trabajo pretende describir la relación existente entre el grupo sanguíneo ABO y las enfermedades hematológicas y no hematológicas de la población de pacientes transfundidos en un Hospital de la Ciudad de Medellín. Metodología Estudio descriptivo retrospectivo, con 2708 datos de clasificación de grupo sanguíneo ABO en pacientes hospitalizados. Se realizó la prueba de Chi² de independencia para determinar la relación entre enfermedades hematológicas y no hematológicas y el grupo sanguíneo. Se tuvieron en cuenta factores sociodemográficos como edad, sexo, grupo sanguíneo, entidad clínica de ingreso e historia clínica en la unidad hospitalaria. Resultados El grupo sanguíneo O se presentó en el 59,2% y el AB en el 18% de los pacientes; Con relación a las entidades clínicas, predominaron las entidades no hematológicas en el 84,8% de la población; entre ellas las más frecuentes la hemorragia gastrointestinal, diabetes mellitus y las fracturas tanto para el grupo A como el B. Con relación a las enfermedades de la sangre y de los órganos hematopoyéticos, se presentaron en el 15,2% de los individuos; en este grupo la anemia representó el 46,2%, principalmente la de tipo no especificado, que se observó en el 13,7% (62) de los individuos; las anemias nutricionales, como la anemia por deficiencia de hierro reportada en el 5,8% de la población, las causadas por hemólisis como la anemia falciforme con crisis en el 6,4%. Conclusión En el presente estudio no se pudo establecer desde el análisis estadístico la relación entre los antígenos de grupo sanguíneo y el desarrollo de una entidad clínica en particular, pero desde el punto de vista clínico si se pudo notar la tendencia de una frecuencia más alta de algunas enfermedades de acuerdo al grupo sanguíneo específico.

Financing: Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia.

OTROS TEMAS

NIVEL DE CONOCIMIENTO DEL PERSONAL DE ENFERMERÍA EN LA TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA DE PACIENTES INTERNADOS. HOSPITAL GENERAL BARRIO OBRERO, PERIODO 2020

Diana Sanabria^{1,2}, Patricia González^{1,3}, Mercedes Martínez¹, Nelly Sosa³, Norma Velázquez¹, Lucina Trinidad¹

(1) Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Hospital General Barrio Obrero, Asunción, Paraguay

(2) Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay

(3) Instituto Superior Profesional Avanzado, Carrera de Licenciatura en Enfermería, Asunción, Paraguay

La fase preanalítica es un componente importante del trabajo en un laboratorio clínico, ya que diversos factores en la toma de muestras sanguíneas pueden afectar los resultados de los análisis de pacientes. El profesional de enfermería desempeña un papel fundamental en la recolección y manejo de muestras clínicas para el cumplimiento de los protocolos preanalíticos, como un requisito básico en el diagnóstico preciso y de calidad. En Paraguay, no se encontró información sobre el conocimiento del personal de enfermería en cuanto a la toma de muestras de sangre para análisis clínicos. **Objetivo:** Evaluar el nivel de conocimiento del personal de enfermería del área de internados en la toma de muestras sanguíneas de pacientes del Hospital General Barrio Obrero en el periodo 2020. **Materiales y métodos:** Fueron evaluados 100 profesionales de enfermería de diferentes servicios y turnos, mediante la aplicación de un cuestionario de investigación anónimo, confidencial y con consentimiento verbal de los participantes. Se evaluó el nivel de conocimiento en cinco aspectos: identificación de los tubos de laboratorio según determinaciones analíticas, orden de llenado de los tubos luego de la extracción sanguínea, volumen mínimo necesario para las diferentes determinaciones, instrucciones generales en toma de muestras sanguíneas y errores que pueden afectar la calidad de las muestras. Cada aspecto estuvo constituido por tres preguntas, considerando que el profesional tenía el conocimiento al responder correctamente al menos dos. Se determinó el nivel de conocimiento global (%), cociente entre los aspectos en los cuales el profesional tenía el conocimiento y el total. **Resultados:** Los profesionales de enfermería pertenecían a los servicios de pediatría (20), clínica médica (20), neonatología (20), cirugía (20) y maternidad (20). 86/100 fueron del sexo femenino y la edad fue de 38±9 años. 49/100 profesionales eran del turno noche, 71/100 egresaron de instituciones privadas y el tiempo ejerciendo la licenciatura tuvo una mediana de 8 años (RIQ=4-10). El nivel de conocimiento para los cinco aspectos evaluados fue: 51% (identificación correcta de tubos de laboratorio), 19% (orden de llenado de los tubos), 48% (volumen de sangre requerida según determinaciones), 59% (instrucciones generales de toma de muestras sanguíneas) y 55% (errores que pueden afectar la calidad de las muestras). El nivel de conocimiento global fue de 51±23% y no se observó diferencia significativa según el servicio ($p=0,224$), turno de trabajo ($p=0,08$), sexo ($p=0,412$) e institución de egreso ($p=0,324$). 41/100 profesionales no habían participado en eventos de capacitación sobre toma de muestras, 32/100 recibió capacitación fuera de la institución y 68/100 adquirieron conocimientos siendo pasantes y/o funcionarios. **Conclusiones:** El nivel de conocimiento global del personal de enfermería en la toma de muestras para el laboratorio clínico, así como los correspondientes a cada aspecto evaluado, no fueron satisfactorios. Se destaca la importancia de realizar jornadas de capacitación para influir positivamente sobre la condición de las muestras clínicas y la calidad de los resultados de pacientes, una parte muy relevante dentro del mejoramiento de las prácticas hospitalarias. **Palabras claves:** fase preanalítica, personal de enfermería, muestras sanguíneas, laboratorio clínico.

EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES Y CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-DEMOGRÁFICA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON ENFERMEDADES ALÉRGICAS

Ana María Godoy¹, Diana Sanabria¹, Valeria Blanco², Sara Benegas¹, Cinthia Liuzzi¹, Vvian Giménez¹, María Mercedes Carpinelli¹

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Inmunología

(2) Facultad de Ciencias Químicas

Los anticuerpos son producidos por linfocitos B para la defensa frente a antígenos extraños y en ciertas condiciones reconocen antígenos propios. Estos autoanticuerpos, cuyo grupo mayoritario constituyen los anticuerpos antinucleares (ANA), se relacionan con la presencia de enfermedad autoinmune, caracterizada por pérdida de función de órganos y tejidos por la respuesta inmune a estructuras propias. Los ANA en títulos séricos de 1:40 pueden también observarse en sujetos sanos y títulos $\geq 1:80$ poseen un valor clínico considerable para autoinmunidad. Además, se ha reportado la detección de ANA en individuos con alergias, sin embargo, en Paraguay no se encontró información de estos autoanticuerpos en pacientes alérgicos. Objetivo: Evaluar la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) y estudiar características clínico-demográficas en pacientes pediátricos con enfermedades alérgicas. Materiales y métodos: Estudio observacional descriptivo de corte transversal, donde fueron incluidos 64 pacientes con diagnóstico de alergia de 1 a 17 años de edad, que acudieron a la Unidad Pediátrica Ambulatoria de la Especialidad Asma, Alergia e Inmunología del Hospital de Clínicas, en el periodo 2019. Los pacientes fueron remitidos al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) para la detección de ANA en suero por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), sustrato células HEp-2, siendo testadas las diluciones 1:40, 1:80, 1:160 y 1:320, considerando en el laboratorio la dilución 1:40 como título de punto de corte. Se describieron características clínico-demográficas y se evaluaron diferencias de estas variables según la presencia de ANA. Resultados: La mediana de edad fue de 4 años (RIQ=2-6), con predominio del sexo masculino (38/64). 11/36 niños en edad escolar presentaron ausencias frecuentes a la institución educativa por repetición de exacerbaciones de cuadros alérgicos. Predominaron el asma (26/64) y la rinitis (22/64), una proporción 36/64 tenía familiar de primer grado (padre y/o madre) con alergias y 45/64 recibía tratamiento antialérgico. Se observaron episodios de infecciones recurrentes del tracto respiratorio inferior (33/64) y superior (21/64). Se encontró una proporción de 7/64 (10,9%) pacientes pediátricos alérgicos con ANA positivos, siendo la mediana de títulos de anticuerpos de 1:40 (Rango total=1:40-1:320) y 3/7 pacientes presentaron títulos $\geq 1:80$. Los patrones de tinción de ANA fueron el nuclear puntillado fino (3/7), nuclear periférico (2/7), nuclear puntillado fino denso (1/7) y nuclear puntillado grueso (1/7). No se observó diferencias significativas ($p > 0,05$) de características clínico-demográficas entre pacientes con ANA positivos (7/64) y negativos (57/64), no obstante, la rinitis alérgica fue más frecuente en pacientes con ANA positivos (71,4% frente a 54,4%; $p = 0,454$), por lo que convendría evaluar esta característica en una muestra de mayor tamaño. Conclusiones: Con este estudio se aportan los primeros datos sobre la presencia de ANA en niños alérgicos de nuestro medio. La frecuencia de ANA positivos destaca la importancia de evaluar estos autoanticuerpos en pacientes pediátricos con enfermedades alérgicas, de modo a considerar la probable presencia de una patología autoinmune y realizar un seguimiento regular de los pacientes con resultados positivos, principalmente aquellos con títulos $\geq 1:80$. Palabras claves: anticuerpos antinucleares, autoinmunidad, alergias, niños.

Avaliação bioquímica sérica em bezerros com gengivite e tratados com virginiamicina

Juliana Vaccari¹, Thamiris Naiasha Minari Ramos¹, Ana Carolina Borsanelli², Júlia Rebecca Saraiva¹, Natália Cristina Souza¹, Elerson Gaetti-Jardim Jr.³, Iveraldo Santos Dutra⁴

(1) Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Unesp), Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brasil

(2) Universidade Federal de Goiás, Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Rodovia Goiânia – Nova Veneza, km 8, Campus Samambaia, Goiânia, GO, 74001-970, Brasil

(3) Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp, Rua José Bonifácio 1193, Araçatuba, SP 16015-050, Brasil

(4) Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Departamento de Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Campus de Araçatuba, Rua Clóvis Pestana 793, Jardim Dona Amélia, Araçatuba, SP 16050-680, Brasil

Gengivite é um processo infecto-inflamatório que acomete os tecidos de proteção e revestimento dos dentes levando a quadros locais e sistêmicos pronunciados. Os fatores ambientais ou modificadores associados à gengivite em bovinos são desconhecidos e o emprego da virginiamicina controla a enfermidade. O presente estudo teve como objetivo avaliar os níveis séricos de magnésio, ureia e albumina em bezerros tratados com virginiamicina e correlacionar com os resultados do monitoramento clínico odontológico semanal por meio da sondagem periodontal dos oito dentes incisivos. Foram avaliados dez bezerros, mantidos em pastagens reformadas, pelo período de cinco meses. Cinco animais receberam diariamente 340 mg de virginiamicina “pour dressing”; outros cinco permaneceram sob o mesmo manejo alimentar e período, sem no entanto receber o antibiótico. A avaliação bioquímica sérica dos metabólitos magnésio, uréia e albumina de ambos os grupo foi realizada por cinco meses consecutivos. Os animais do grupo virginiamicina apresentaram menor ocorrência de gengivite ($p < 0,01$, teste T-Student) e níveis mais elevados de magnésio (2,42 mg/dL; $p = 0,008$), albumina (2,73 mg/dL; $p = 0,0008$) e ureia (23,98 mg/dL; $p = 0,008$) comparados ao grupo controle. Os resultados sugerem que a elevação dos níveis séricos de magnésio, albumina e ureia podem indicar uma modificação do padrão de metabolismo do nitrogênio e aumento da resistência às infecções, ao mesmo tempo em que o magnésio, quando aumentado, pode estar associado a redução das respostas inflamatórias. No presente estudo pode-se concluir que apesar de ser uma enfermidade bucal a gengivite afeta sistemicamente o metabolismo animal. Pelo que se depreende do presente estudo, o emprego da virginiamicina repercutiu clinicamente na redução da incidência da gengivite e no aumento dos marcadores séricos magnésio, ureia e albumina. Palavras- Chave: Gengivite, bezerros, magnésio, ureia, albumina, virginiamicina.

Financing: Fonte de Financiamento: CAPES (Processo 88887.340174/2019-00).



ALAM 2021

**I CONGRESO PARAGUAYO
DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS DEL LABORATORIOS**

ACTUALIZACIÓN EN TOXICOLOGÍA

IMPACTO DE LA PANDEMIA POR COVID19 EN EL PATRÓN DE CONSUMO DE DROGAS DE ABUSO DETECTADO EN EL SCREENING DE ORINA EN NUESTRA ÁREA DE SALUD

Sara Martinez Martin¹, Lucía Martínez Carreras¹, María Teresa De Haro Romero¹, Sebastian Jose Guardia Ales¹, María del Pilar Benayas Bellido¹, Cristobal Avivar Oyonarte¹

(1) Hospital de Poniente, Area integrada de Biotecnología, carretera de Almerimar s/n, El Ejido (Almeria), España

La pandemia por Covid-19 y las medidas gubernamentales adoptadas para tratar de evitar su expansión han supuesto un gran impacto, no sólo sanitario sino también en la salud mental de la población. El aislamiento y la falta de contacto social han alterado el patrón de consumo de sustancias psicoactivas en nuestra población. Este ha sido detectado con el screening de drogas de abuso en orina, el cual proporciona un resultado analítico preliminar cualitativo especialmente útil en las urgencias hospitalarias, debido a su fácil modo de uso y la rápida obtención de resultados. Descripción de métodos: Estudio observacional retrospectivo de los resultados obtenidos en nuestro hospital tanto del año de pandemia por Covid-19 como del año previo, utilizando la fecha de inicio del confinamiento en España, el 16 de Marzo de 2020, como fecha de corte entre uno y otro. Los resultados fueron obtenidos mediante la prueba DRUG-Clip Test 10, test inmunocromatográfico de flujo lateral usado para la detección de drogas de abuso y sus principales metabolitos en orina. Los pacientes se clasificaron en 5 grupos por edad: grupo 1 (< 1 año), grupo 2 (1-14 años), grupo 3 (15-29 años), grupo 4 (30-39 años), grupo 5 (40-49 años), grupo 6 (50-59 años) y grupo 7 (mayores de 60 años). Resultados: El año anterior a la pandemia se realizaron 1574 test de drogas de abuso en orina resultando positivos el 66,01%, mientras que el año de la pandemia se realizaron un 11% menos de test, 1401, obteniéndose un porcentaje similar de resultados positivos, 66,1%. En ambos periodos, las drogas más consumidas fueron, en primer lugar, las benzodiazepinas, 42.95% en prepandemia incrementándose hasta un 45.47% en el año de la pandemia; seguidas del cannabis, 22.36% en prepandemia y 23.70% en la pandemia; y la cocaína, 13.21% en prepandemia y 12.85% en el año de la pandemia. En el caso de las benzodiazepinas encontramos un incremento de su detección en todos los grupos, a excepción del grupo 5 y 7 en los que se mantienen similares, lo cual se acompaña en el grupo 4 con un aumento de detección de antidepresivos tricíclicos. Siguiendo con el cannabis, se ha detectado su presencia en proporción similar en el grupo 3 pero se ha visto aumentado en el resto de grupos. En cuanto a la cocaína, se observa un aumento en el grupo 3 y disminución en el resto. Lo que sí se observa común en todos ellos es la disminución de intoxicaciones por metilenedioximetanfetamina (MDMA, éxtasis) y metanfetaminas. Conclusión: Con nuestro estudio hemos observado cambios en el patrón de detección de tóxicos en orina, probablemente relacionados con la limitación de las relaciones sociales durante el periodo de confinamiento, como es el caso de la disminución de las intoxicaciones por drogas sintéticas, como el MDMA y las metanfetaminas, cuyo consumo se asocia al ocio nocturno. Resulta destacable además el incremento en el consumo de fármacos psicótropos asociado al impacto sobre la salud mental que dichas medidas hayan podido tener sobre la población de nuestra área.

OTROS TEMAS

Potencial antitumoral in vitro del veneno de *Bothrops moojeni* y sus componentes sobre células de adenocarcinoma gástrico

Jorge Javier Alfonso¹, Ana F. Gómez¹, Andreimar Martins Soares², Miriam Soledad Rolón¹, Celeste Vega Gómez¹

(1) Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC), Asunción, Paraguay

(2) Fundação Oswaldo Cruz, Rondônia-FIOCRUZ-RO, Porto Velho, Brasil

Los venenos de serpientes son una mezcla compleja de proteínas y péptidos con un amplio repertorio de efectos farmacológicos. Además de los efectos relacionados a la fisiopatología del envenenamiento ofídico, diversas actividades biológicas con potencial aplicación en diferentes áreas han sido relatadas para los componentes presentes en estas secreciones. En este contexto, el presente estudio tuvo por objetivo evaluar el potencial antitumoral in vitro sobre células de adenocarcinoma gástrico (AGS) del veneno de *B. moojeni* y sus componentes. METODOLOGÍA: Para alcanzar el objetivo propuesto, aproximadamente 200 mg del veneno de *B. moojeni* fueron sometidos a una cromatografía de intercambio iónico (intercambio catiónico), utilizando una columna CM Sepharose (1 x 60) cm. Las fracciones eluidas fueron colectadas, liofilizadas, cuantificadas y posteriormente, fue visualizado el perfil electroforético de las fracciones en un gel de poliacrilamida al 12,5% (SDS-PAGE, 12,5%). Finalmente, se determinó el potencial antitumoral y actividad antitumoral específica del veneno y sus componentes utilizando como modelos células de AGS y fibroblastos murinos no tumorales NCTC-929. El análisis estadístico fue realizado utilizando el programa GraphPrism 6.0. RESULTADOS: La cromatografía de intercambio catiónico permitió la obtención de 8 fracciones y posteriormente el SDS-PAGE 12,5% reveló la masa molecular relativa de las proteínas presentes en las fracciones eluidas. Ambas etapas experimentales confirmaron la presencia de una diversidad de proteínas en el veneno con diferentes puntos isoeléctricos y masas moleculares variables. Con respecto al potencial antitumoral in vitro, se observó que el veneno presentó una CC50 de 12 µg/mL, mientras que las fracciones 7 y 8 presentaron valores de CC50 de 25 y 30 µg/mL, respectivamente. Por otra parte, sobre los fibroblastos no tumorales los valores de CC50 fueron de 18 µg/mL para el veneno y de 22 y 30 µg/mL para las fracciones 7 y 8, respectivamente. CONCLUSIÓN: Se observó una gran variabilidad de proteínas presentes en el veneno de *B. moojeni* y que toxinas compatibles con masa molecular a fosfolipasas A2 presentaron efecto citotóxico sobre ambos linajes celulares evaluados. A pesar de esto, es evidente el potencial que presentan los componentes de venenos para la identificación de agentes antitumorales, por lo que son necesarios estudios con diversos linajes celulares para determinar un potencial efecto selectivo y comprender los mecanismos de acción de las toxinas sobre las células de origen tumoral

Financing: CONACyT-PINV18-107, Programa Nacional de Incentivo a los Investigadores (PRONII), CAPES, CNPq, FAPERO

INDEX

SOCIEDADES CIENTÍFICAS

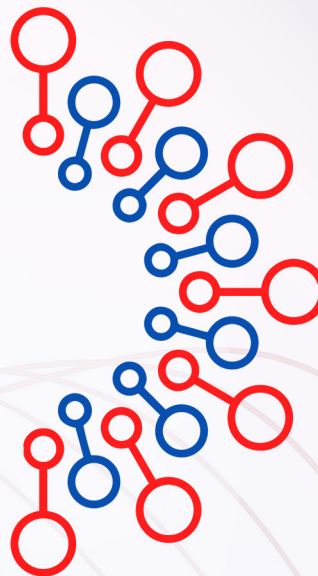


ALAM 2021

ASUNCIÓN - PARAGUAY

XXV CONGRESO
LATINOAMERICANO
DE MICROBIOLOGÍA

25 AL 28 DE AGOSTO



XXV CONGRESO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGÍA
IX CONGRESO NACIONAL DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
I CONGRESO PARAGUAYO DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS DEL LABORATORIO

ORGANIZADORES



ASOCIACIÓN DE
BIOQUÍMICOS DEL
PARAGUAY



ifcc

International Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine



ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA
DE MICROBIOLOGÍA



PATROCINADORES



BIOMÉRIEUX



CLUB
VIDAS



Díaz Gill
MEDICINA LABORATORIAL S.A.

