

MEMORIAS

BOGOTÁ MICROBIAL MEETING



BoMM 2016

12 de agosto de 2016

Con el apoyo de:



MEMORIAS

BOGOTÁ MICROBIAL MEETING



Memorias
Bogotá Microbial Meeting –
BoMM 2016

Publicación anual
Bogotá, Colombia
12 de agosto de 2016
ISSN

Editores

Alejandro Acosta González. Universidad de La Sabana- Bogotá; Embajador joven "ISME Society".

Angela Cantillo. Corpogen / Universidad de los Andes – Bogotá.

Carolina Díaz-Cárdenas. Pontificia Universidad Javeriana – Bogotá.

Ana Carolina Mesa. Investigadora, IBUN, Universidad Nacional de Colombia - Bogotá.

Zulma Suárez. Directora de Investigación & Desarrollo VECOL S.A. Embajadora joven "ASM".

María Mercedes Zambrano. Corpogen- Bogotá; Embajadora "ISME Society" y Embajadora ASM.

Sandra Baena. Pontificia Universidad Javeriana - Bogotá

Contenido

| | |
|--|----|
| PRESENTACION DE PONENCIAS BOMM 2016..... | 5 |
| Nuevas estrategias moleculares aplicadas a la terapia de reemplazo enzimático..... | 6 |
| Estrategia para la recuperación de actividades enzimáticas derivadas de librerías metagenómicas..... | 7 |
| Perfilado Metabólico para la Evaluación de Bacterias Marinas como Fuente de Compuestos para el Control de Fitopatógenos..... | 8 |
| Múltiples caminos en el flujo de electrones a corriente en celdas microbianas de electrólisis alimentadas con concentraciones altas y bajas de propionato..... | 9 |
| Actividad antimicrobiana de bacterias intestinales asociadas a insectos vectores de la enfermedad de Chagas en Colombia..... | 10 |
| Graficando genomas en 2D y a todo color, aplicaciones de la estadística multivariada sobre la composición genómica..... | 11 |
| Flujo de trabajo bioinformático y evaluación de software para búsqueda de metabolitos secundarios en Bacteria..... | 12 |
| Evaluación de bacterias sulfato reductoras nativas para la biorremediación de arsénico..... | 13 |
| Evaluación de la participación de un sistema de eflujo tipo RND, en la multirresistencia de una cepa colombiana de <i>Acinetobacter baumannii</i> | 15 |
| Asignación taxonómica de secuencias de 16S rRNA basada en análisis de Fourier..... | 16 |
| Construcción de bibliotecas proteómicas "In House" de genotipos moleculares de <i>Cryptococcus</i> spp Patógenos Humanos..... | 17 |
| PRESENTACIÓN DE PÓSTER BOMM 2016..... | 18 |
| Efecto del uso de antibióticos en ambientes hospitalarios sobre las comunidades microbianas..... | 19 |
| Design of culture medium as carrier material for improve the survival of Colombia native probiotic..... | 20 |

| | |
|--|----|
| Identificación de genes lipolíticos a partir de una librería metagenómica de bacterias epífitas de macroalgas de la especie <i>Ulva lactuca</i> | 21 |
| Producción de etanol por SSF usando un extracto enzimático producido por hongos filamentosos (<i>Verticillium</i> sp. and <i>Penicillium</i> sp) | 22 |
| Estudio genético del aislamiento ambiental <i>Scedosporium apiospermum</i> HD01 con habilidad para degradar hidrocarburos..... | 23 |
| Actividad antimicrobiana de secreciones de piel de ranas y su relación con variables bioclimáticas: un estudio nivel inter e intraespecie..... | 24 |
| Evaluación de la actividad anti <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> por parte de la microbiota presente en la piel de dos especies de ranas andinas..... | 25 |
| Estudio de la Síntesis de Ramnolípidos y Metabolitos Asociados en <i>P. aeruginosa</i> PA01 a partir de Glicerol crudo..... | 26 |
| Evaluación de la actividad biológica y dereplicación química de hongos aislados de ambientes marinos..... | 27 |
| Identificación de secuencias génicas relacionadas con control de insectos en genomas de extremófilos..... | 28 |
| Actividad antibacteriana, citotoxicidad y degradación microbiana in vitro de suturas no absorbibles tipo poliuretano | 29 |
| Aislamiento de bacterias halófilas Nativas para determinar su potencial en la biorremediación de suelos salinos..... | 30 |
| Búsqueda de compuestos biosurfactantes producidos por bacterias aisladas de ambientes marinos..... | 31 |
| Actividad antimicrobiana de la fracción procariota cultivable de las salinas de Manaure, La Guajira, Colombia..... | 32 |
| Roles funcionales de comunidades microbianas y cambios en la expresión génica de las almendras de cacao durante el proceso de fermentación..... | 33 |
| Evaluación de la microbiota nativa cromo-tolerante proveniente de los biosólidos de la PTAR San Fernando..... | 34 |
| Study of inhibitory volatile compounds of Quorum Sensing produced from marine bacteria by GC-MS..... | 35 |
| Resistencia a temperatura y radiación UV de cepas microbianas asociadas a <i>Espeletia</i> sp..... | 36 |

| | |
|---|----|
| La separación por tamaño celular como una herramienta para mejorar la caracterización de la diversidad, función y abundancia del microbioma ruminal..... | 37 |
| Microbiota intestinal de larvas y adultos de <i>Anopheles albimanus</i> colectados en Bahía Solano - Pacífico Colombiano | 38 |
| Selección de aislamientos bacterianos productores de moléculas señal tipo N-acil homoserina lactonas (AHLs) asociados a cultivos de papa como estrategia de control biológico contra <i>Tecia solanivora</i> (Lepidoptera: Gelechiidae) | 39 |
| Análisis comparativo de microbiota intestinal de osos de anteojos silvestres y en cautiverio mediante secuenciación del 16S..... | 40 |
| Expansión multiclonal de <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistente a carbapenémicos en instituciones de alto nivel de complejidad de Medellín | 41 |
| Identificación y potencial bioprospectivo de actinobacterias aisladas de sedimentos del río Arauca, Colombia | 42 |
| Identificación de genes mediadores de resistencia a antibióticos en aislamientos colombianos de <i>Acinetobacter baumannii</i> causante de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) | 43 |
| Caracterización de la patogenicidad y rasgos biológicos de cepas de <i>Candida haemulonii</i> vs <i>Candida auris</i> en modelo de <i>Galleria mellonella</i> | 45 |
| Búsqueda de regiones informativas en genomas virales. | 47 |
| Análisis de redes y su uso en el entendimiento de la ecología microbiana de la fermentación de Cacao | 48 |
| Efecto de la renovación de praderas sobre las poblaciones bacterianas asociadas a la rizósfera de <i>Pennisetum clandestinum</i> | 49 |
| Producción de la enzima humana N-acetilgalactosamina-6-sulfato sulfatasa recombinante (GALNS) en la levadura <i>Pichia pastoris</i> | 50 |
| Evaluación del potencial antagonista de Bacterias ácido lácticas (BAL) sobre el crecimiento <i>in vitro</i> del fitopatógeno <i>F. oxysporum</i> que afecta el cultivo de uchuva (<i>Physalis peruviana</i> L)..... | 51 |
| Aislamiento e identificación de bacterias halófilas con potencial bioactivo aisladas de las Salinas de Zipaquirá, Colombia..... | 52 |

| | |
|--|----|
| Análisis de genes que contribuyen a las funciones benéficas de rizobacterias (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i>) en plantas de banano Williams..... | 54 |
| Susceptibilidad a los antimicrobianos de bacterias asociadas al Material Particulado PM2.5 del aire capturado en el Valle de Aburrá, Antioquía..... | 55 |
| Detección de bacterias productoras de compuestos volátiles asociadas a flores de fresa (fragaria x ananassa) como posibles atrayentes de abejas polinizadoras (<i>Apis mellifera</i>)..... | 56 |
| Determinación genotípica de la resistencia a claritromicina en cepas de <i>Helicobacter pylori</i> provenientes de antro y cuerpo de pacientes colombianos sintomáticos..... | 58 |
| Microbiota de trips (Thysanoptera: Thripidae) procedentes de cultivos comerciales de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill.) del Oriente antioqueño..... | 60 |
| Aislamiento y caracterización de bacterias diazotróficas de cultivos de caña panelera en dos regiones productoras de Colombia..... | 61 |
| β -N-acetilhexosaminidasas lisosomales humanas recombinantes en <i>Pichia pastoris</i> GS115: expresión, caracterización y evaluación <i>in vitro</i> | 62 |
| El microbioma cloacal en un ave silvestre: el rol de la reproducción y el sexo..... | 64 |
| Evaluación del potencial de cutinasas, aisladas a partir de hongos filamentosos presentes en residuos agroindustriales..... | 65 |
| Composición de la microbiota intestinal de un vector primario de malaria en Colombia..... | 66 |
| Aislamiento de una cepa de <i>Bacteroides fragillis</i> para diferenciar el origen de la contaminación fecal en el río Bogotá..... | 67 |
| Detección de <i>Helicobacter pylori</i> en aguas crudas y potables en tres plantas de potabilización..... | 69 |
| Insecticidal activity from Cyanobacteria from microbial mats..... | 71 |
| Análisis bioinformático de metagenomas virales provenientes de diferentes biomas..... | 72 |

PRESENTACION DE PONENCIAS BOMM 2016

Nuevas estrategias moleculares aplicadas a la terapia de reemplazo enzimático

Luis H. Reyes

Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, Pontificia Universidad Javeriana - Bogotá.

La terapia de reemplazo enzimático es la principal, y algunas veces única terapia efectiva para el tratamiento de diversos desordenes genéticos, tal como las enfermedades de depósito lisosomal. La enzima N-acetilgalactosamina-6-sulfato sulfatasa (GALNS) es una enzima involucrada en la degradación de los glicosaminoglicanos keratán sulfato y condroitin-6-sulfato. Mutaciones en GALNS causan la enfermedad llamada Mucopolisacaridosis 4A (conocida como Síndrome de Morquio A), la cual es una enfermedad autosomal recesiva caracterizada por la acumulación de estas moléculas en lisosomas, acarreando daños como baja estatura, displasia, anomalías dentales y nublamiento de la córnea. El Instituto de Errores Innatos del Metabolismo produjo exitosamente GALNS en *Escherichia coli*, sin embargo a un bajo rendimiento.

En este trabajo, diversas estrategias fueron investigadas para el mejoramiento en la producción de GALNS. Aproximaciones a nivel de biología molecular y sintética fueron exitosamente aplicadas para incrementar la producción de GALNS en más de 12 veces. Estas aproximaciones incluyen mejoramiento en la transcripción del gen, plegamiento proteico a través de sobreexpresión de chaperonas e incremento en la formación de puentes disulfuro. Todas las estrategias descritas en este trabajo pueden ser aplicadas para la producción de otras proteínas humanas recombinantes en *E. coli*.

Estrategia para la recuperación de actividades enzimáticas derivadas de librerías metagenómicas

Dayana Calderon¹, Luis Peña², Angélica Suarez¹, Carolina Villamil¹, Juan Manuel Anzola³, Juan Carlos García-Betancur⁴, Martha Lucia Cepeda-Hernandez¹, Daniel Uribe⁵, Patricia Del Portillo¹, Alvaro Mongui^{1*}

1 Biotecnología Molecular, Corporación CorpoGen, Bogotá, Colombia.

2 Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology - Hans Knöll Institute, Friedrich-Schiller Universität, Jena, Germany.

3 Biología Computacional, Corporación CorpoGen, Bogotá, Colombia.

4 Institute for Molecular Infection Biology, Universität Würzburg, Würzburg, Germany.

5 Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

La gran diversidad microbiana del planeta representa una valiosa fuente para la identificación de nuevas actividades con potencial aplicación industrial y terapéutica. En este sentido, la metagenómica ha surgido como un grupo de técnicas que han facilitado significativamente la extracción y análisis de ADN proveniente de múltiples ambientes, permitiendo expandir considerablemente los límites de la diversidad microbiana conocida durante los últimos años. Pese a esto, una limitación en la caracterización funcional de enzimas y metabolitos codificados por dichas mezclas complejas de genomas microbianos ha sido la ineficacia de la expresión heteróloga de genes foráneos. Como una alternativa para superar esta dificultad planteamos la validación de una estrategia que combina: (1) secuencia masiva de grupos de fósidos con sus respectivos insertos metagenómicos, (2) ensamblaje de secuencias de ADN, (3) caracterización de secuencias génicas codificantes de proteínas putativas, (4) asignación funcional para inferir posibles rasgos enzimáticos y (5) ensayos funcionales con genes de interés subclonados. La metodología propuesta nos permitió recuperar con alta eficiencia actividades enzimáticas que previamente no habían sido identificadas en ensayos funcionales con los clones metagenómicos originales. Por lo tanto, esta estrategia tiene el potencial de ser aplicada sobre ADN ambiental derivado de múltiples fuentes, con el fin de recuperar los múltiples fenotipos que en ensayos tradicionales de actividad normalmente pasan desapercibidos.

Perfilado Metabólico para la Evaluación de Bacterias Marinas como Fuente de Compuestos para el Control de Fitopatógenos

L.A. Betancur^{1,2*}, S.J. Naranjo^{1,3}, D.M. Vinchira¹, N.C. Moreno¹,
L.A. Maldonado⁴, Z.R. Suarez⁵, A. Acosta-González⁶, L. Castellanos¹,
F.A. Ramos^{1*}

¹Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Grupo de investigación: Estudio y Aprovechamiento de Productos Naturales Marinos y Frutas de Colombia

²Universidad de Caldas. Departamento de Química. *E-mail: labetancurj@unal.edu.co

³Universidad Politécnica del Ejército. Quito-Ecuador E-mail sjnaranjog@unal.edu.co

⁴ Universidad Autónoma Metropolitana. Rectoría - Secretaría General, Prolongación Canal de Miramontes 3855, Tlalpan, CP 14387, México DF. E-mail: Luis_angel_maldonado@hotmail.com

⁵Investigación y Desarrollo. Empresa Colombiana de Productos Veterinarios VECOL S.A. E-mail: zrsuarezm@gmail.com ⁶ Universidad de La Sabana. Facultad de Ingeniería, Grupo de Investigación en Bioprospección (GIBP). E-mail: alejandro.acostal@unisabana.edu.co

El ambiente marino representa una fuente poco estudiada para el aislamiento de bacterias con potencial para producir compuestos bioactivos.¹ El perfilado metabólico es una herramienta metabolómica que permite la obtención de perfiles de una mezcla compleja de metabolitos en un extracto crudo, así como la identificación de sustancias de interés que puedan ser correlacionadas a cierta actividad biológica antes continuar con cualquier procedimiento químico.² En el presente estudio, se obtuvo una colección de 33 cepas a partir de 11 fuentes marinas recolectadas en el arrecife coralino de Providencia y Santa Catalina. La secuenciación parcial del gen 16S ribosomal de los aislados indica que pertenecen a 8 géneros: *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Gordonia* (phylum *Actinobacteria*); *Stenotrophomonas* y *Proteus* (phylum *Gammaproteobacteria*); *Bacillus*, *Lysinibacillus* y *Paenibacillus* (phylum *Firmicutes*). De estas se obtuvieron los perfiles metabólicos por LC-MS de los extractos de acetato de etilo de cada cepa cultivados en TSB. El pre-procesamiento de los datos se realizó en el software MZmine y posteriormente se analizaron usando el paquete estadístico SIMCA-P 14 (Umetrics, Suecia). El enfoque metabolómico se realizó por un análisis multivariado (HCA, y OPLS-DA) que incluyó los datos de actividad contra bacterias patógenas del arroz e inhibidores del *quorum sensing*. Basados en los criterios taxonómicos, el *screening* de actividad frente a las cepas fitopatógenas, la actividad de inhibición del Quorum Sensing y el perfil metabólico de los extractos orgánicos de las cepas, se seleccionaron 8 de los 33 aislamientos para continuar con futuros trabajos de aislamiento e identificación de compuestos químicos.

Múltiples caminos en el flujo de electrones a corriente en celdas microbianas de electrólisis alimentadas con concentraciones altas y bajas de propionato

Hari AR¹, Katuri KP¹, Gorrón E¹, Logan BE², Saikaly PE³.

¹ División de Ciencias e Ingeniería Ambiental, Centro de Desalinización y Reuso del Agua, King Abdullah University of Science and Technology, Thuwal, 23955-6900, Saudi

² Arabia. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, The Pennsylvania State

³ University, University Park, PA, USA. División de Ciencias e Ingeniería Ambiental, Centro de Desalinización y Reuso del Agua King Abdullah University of Science and Technology, Thuwal, 23955-6900, Saudi Arabia. Autor para correspondencia: pascal.saikaly@kaust.edu.sa.

El uso de sistemas bioelectroquímicos ha surgido como una opción para usar diferentes residuos como fuente de electricidad utilizando microorganismos. En particular, celdas de electrólisis microbiana (Microbial Electrolysis Cells - MECs) ofrecen una alternativa interesante en la cual los electrones resultantes pueden ser utilizados para producir hidrógeno (H₂). Sin embargo, las rutas metabólicas que los electrones pueden seguir en MECs con sustratos complejos aún no son del todo claras. En este trabajo se intentó elucidar estas rutas en el caso de MECs alimentados con propionato. 2 concentraciones de propionato, llamadas bajo (4,5 mM) y alto (36 mM) se utilizaron para alimentar MECs con una comunidad microbiana derivada de aguas residuales municipales. El principal destino de los electrones fue la producción de corriente en ambos casos (57% en concentración alta y 96% en concentración baja), y el gas metano no resultó ser una fuente importante de pérdida de electrones (0-2,3%). El compuesto 2-bromoetanosulfonato fue usado como un inhibidor selectivo de metanogénesis. La eficiencia coulombica fue ligeramente mayor en presencia del inhibidor en concentración baja, pero en concentración alta ocurrió lo contrario (23,5% Vs 11,2%). La remoción de propionato alcanzó una eficiencia de 98% en concentración baja y de 78% en concentración alta. El análisis de secuencias de gen de ARNr 16S reveló la predominancia de organismos del género *Geobacter*. En conjunto, estos resultados arrojan nuevas pistas acerca del camino que los electrones siguen en el ánodo de MECs alimentados con propionato.

Actividad antimicrobiana de bacterias intestinales asociadas a insectos vectores de la enfermedad de Chagas en Colombia

L. M. Montoya-Porras¹, G. E. Cadavid-Restrepo¹, C. X. Moreno-Herrera¹,
O. Triana-Chavez²

1 Grupo de Microbiodiversidad y Bioprospección. Universidad Nacional de Colombia-
Sede Medellín, Medellín - Colombia.

2 Biología y Control de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Biología,
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

La enfermedad de Chagas es una parasitosis causada por *Trypanosoma cruzi*, un protozoo transmitido por insectos de la subfamilia *Triatominae*. El conocimiento de las características metabólicas y antimicrobianas de la flora bacteriana presente en el intestino de insectos vectores, proporciona información útil para el control de la transmisión y tratamiento de la enfermedad. En este estudio se seleccionaron aislados bacterianos del intestino de 4 especies de vectores de la enfermedad de Chagas (*Rhodnius prolixus*, *Rhodnius colombiensis*, *Rhodnius pallescens* y *Triatoma maculata*), caracterizados por métodos de microbiología convencional y molecular. Se realizaron pruebas de actividad hemolítica, proteolítica y lipolítica; se evaluó la actividad antibacteriana contra cepas patógenas de referencia por difusión en agar de extractos metanólicos de los aislados y la actividad antiparasitaria de los mismos contra epimastigotes de *T. cruzi*, por el método Alamar-Blue. Todas las bacterias evaluadas tienen actividad antibacteriana contra aislados clínicos de referencia, los ensayos enzimáticos indicaron que 35% de los aislados bacterianos poseen capacidad lipolítica, 15% tienen capacidad hemolítica, 20% presentaron actividad proteolítica en agar leche y 10% degradaron la gelatina; lo que evidencia que estas bacterias cumplen un rol metabólico importante que puede determinar la relación microbiota-parásito-hospedero. Esta es la primera vez que se caracterizan las actividades enzimáticas y antimicrobianas de las bacterias asociadas al tracto intestinal de estas cuatro especies de Triatominos presentes en Colombia y complementa la información sobre la actividad de bacterias intestinales que ha sido reportada en otras especies de vectores de la enfermedad de Chagas, principalmente *Rhodnius prolixus*."

Graficando genomas en 2D y a todo color, aplicaciones de la estadística multivariada sobre la composición genómica

María Camila Martínez Villa y Alejandro Reyes

Grupo de Investigación en Biología Computacional y Ecología Microbiana - BCEM,
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Antecedentes: Dado al incremento en la facilidad de obtener secuencias genómicas, las herramientas actuales para la comparación de estas (ejemplo: Blast) en ocasiones no son lo suficientemente sensibles para encontrar diferencias. La composición genómica entendida en variables como frecuencias y sesgos de k-mers permite comparar fácilmente diferentes organismos y encontrar relaciones evolutivas. Igualmente, estas variables no se restringen a las zonas codificantes del genoma sino que toda la información puede ser condensada en una distribución.

Objetivo: Generar una función que tenga como entrada distribuciones de frecuencias y sesgos de un genoma y produzca como salida una imagen en 2D.

Metodología: Se generó una función en R que permitía tomar archivos de genomas fragmentados, donde cada fragmento se convertía en un pixel RGB de la imagen 2D final. Los pixeles RGB se obtuvieron luego de reducir la dimensionalidad aplicando métodos multivariados como PCA y PCoA.

Resultados: Las imágenes de organismos como *E. coli* y *Shigella* sp (procariotas) tuvieron un patrón de coloración semejante que con otros como *D. Melanogaster* o *M. musculus* (eucariotas).

Conclusiones: La prueba de concepto que consistía en que las imágenes 2D de genomas filogenéticamente más cercanos serían más similares que los genomas que no lo son, se pudo comprobar. De este modo, la función permitió diferenciar propiedades inter-genómicas a una escala elemental dada por el color global de las imágenes"

Flujo de trabajo bioinformático y evaluación de software para búsqueda de metabolitos secundarios en Bacteria

JD Alzate-Ocampo¹, LN Gonzalez-Garcia¹, C Díaz-Cárdenas², G López², A Reyes¹, S Restrepo¹, S Baena².

1 Departamento de Biología, Universidad de los Andes, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

2 Departamento de Biología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

El proceso de descubrimiento de productos naturales (PN) producidos por bacterias ha evolucionado a partir de un enfoque *in vitro* a una combinación de procesos *in-vitro* e *in-silico*. Dado el potencial para encontrar nuevos productos se pueden estudiar usando nuevo software, este proyecto tiene como objetivo definir un flujo de trabajo que pueda ayudar a los investigadores a descubrir posibles productos en bacterias. El flujo de trabajo propuesto incluye tres pasos principales: 1) Evaluación del Genoma: incluyendo las estadísticas de predicción de genes ortólogos y qué tan completo está; 2) anotación del genoma: este paso valida la asignación taxonómica de la cepa, se hace una anotación con RAST y una manual con Blast2GO; y 3) Predicción de metabolitos secundarios: en los que se utilizan BAGEL3, clusterfinder, Antismash y NaPDoS. Nueve bacterias aisladas de termales y salinas en Colombia fueron secuenciadas, ensambladas y evaluadas con el flujo de trabajo. Los resultados mostraron que estos organismos tenían una posibilidad de producir metabolitos secundarios, tales como, bacteriocinas, terpeno, policétido sintetas, ácidos grasos y péptidos no ribosomales. La producción de estos productos naturales está siendo evaluada en condiciones de laboratorio para cepas de los géneros *Aurantimonas* y *Caloramator*. En última instancia, es importante destacar que este trabajo abre la posibilidad de iniciar el estudio de las bacterias y evaluar su potencial para producir PN que pueden ser utilizados en campos como la microbiología industrial, biología, química industrial y farmacéutica con el fin de orientar el flujo de trabajo a producción.

Evaluación de bacterias sulfato reductoras nativas para la biorremediación de arsénico

C. M. Rodríguez, E. Castillo, P. F. B. Brandão

Grupo de Estudios para la Remediación y Mitigación de Impactos Negativos al Ambiente (GERMINA), Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS: Las bacterias sulfato reductoras (BSR) pueden utilizar el sulfato como aceptor final de electrones para generar energía metabólica, produciendo sulfuro. Este reacciona con el arsénico para formar un compuesto insoluble. En esta investigación se evaluaron BSR nativas de Colombia para remover o disminuir la biodisponibilidad de arsénico, tanto en medio líquido sintético como en cultivos de arroz en invernadero.

MÉTODOS: Se evaluaron cepas BSR nativas, dos de la Colección de Microorganismos de la Pontificia Universidad Javeriana y diez aisladas de suelos agrícolas con presencia de arsénico. Se determinó la concentración mínima inhibitoria de arsénico sobre las cepas y se seleccionaron dos de las que presentaron menor inhibición de crecimiento a altas concentraciones del metaloide. Con una de las cepas y mediante un diseño factorial completo, se determinaron las variables más significativas para posibles estudios de remoción. Finalmente, se evaluó la eficiencia de precipitación del metaloide bajo diferentes condiciones de temperatura y pH, utilizando las dos cepas seleccionadas. Se realizaron ensayos bajo invernadero con cultivos de arroz, evaluando el crecimiento de la planta al utilizar diferentes tratamientos con BSR y/o sulfato en suelos con y sin presencia de arsénico.

RESULTADOS: Las cepas *Desulfovibrio acrylicus* (CMPUJ U361) y *Propionibacterium avidum* P29 mostraron, respectivamente, eficiencias de precipitación máximas de 83% y 63%, las cuales fueron más altas que la del control de sulfuro inorgánico (26%). Durante el cultivo de arroz en invernadero, se encontró que los tratamientos con BSR y/o sulfato en suelos con presencia de arsénico presentaron un mayor crecimiento de las plántulas, comparado con los cultivos sin estos tratamientos.

CONCLUSIONES: Los resultados sugieren que las BSR nativas evaluadas pueden remover arsénico en medio líquido bajo ciertas condiciones. El

uso de la cepa *D. acrylicus* (CMPUJ U361) en suelos, previo al cultivo de arroz, tiene un efecto positivo en el crecimiento de las plántulas. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para comprobar el efecto de la actividad sulfato-reductora sobre la biodisponibilidad del metaloide.

Evaluación de la participación de un sistema de eflujo tipo RND, en la multirresistencia de una cepa colombiana de *Acinetobacter baumannii*

Diana Vanessa Flórez Salcedo¹, Zulma Rocío Suarez Moreno², María Teresa Reguero Reza¹, Emilia María Valenzuela¹, José Ramón Mantilla Anaya, Emiliano Barreto

1. Laboratorio de Epidemiología Molecular, Universidad Nacional, Bogotá-Colombia
2. Directora de Investigación & Desarrollo VECOL S.A.

En Colombia *A. baumannii* ha sido estudiado por su asociación con infecciones nosocomiales; sin embargo se desconoce la función de los sistemas eflujo en el fenotipo de resistencia. El objetivo de este trabajo fue evaluar la participación de un sistema de eflujo tipo RND, en la multirresistencia de una cepa colombiana de *A. baumannii*, asociada con infección intrahospitalaria. La metodología empleada fue evaluación de la variación en sensibilidad antibiótica en presencia de inhibidores tipo CCCP, identificación de genes de las familias de eflujo en el genoma secuenciado, inactivación de la familia AdeABC, y evaluación de los cambios en el perfil de sensibilidad. Los resultados de la secuenciación del genoma mostraron que 96 genes codificantes para sistemas de eflujo en la cepa AB107M pertenecen a las cinco familias de eflujo: 40 MFS, 4 RND, 35 ATPasas, 1 SMR, 1 MATE. Se identificó un sistema de eflujo AdeABC por PCR, y se generó un mutante deficiente *adeB*, que mostró claramente que este sistema está implicado en la resistencia a tres antibióticos evaluados en la cepa AB107M (ciprofloxacina, tetraciclina, colistina), observado por un cambio en el perfil de sensibilidad, en comparación con la cepa tipo. Este trabajo aportó información en la comprensión de los sistemas de eflujo dado que, la inactivación química y genética del transportador del gen *adeB* (locus ABIBUN_0995) evidenció que la bomba AdeABC cumple un rol importante en el fenotipo de multirresistencia de la cepa AB107M de *A. baumannii*.

Asignación taxonómica de secuencias de 16S rRNA basada en análisis de Fourier

Guillermo Luque y Guzmán Sáenz, Alejandro Reyes Muñoz

Grupo de Investigación en Biología Computacional y Ecología Microbiana - BCEM,
Universidad de los Andes

Presentamos TAXOFOR, un novedoso clasificador de aprendizaje supervisado usando ensamblajes aleatorizados de bosques de árboles de decisión (Random Forests) para asignar taxonomía a amplicones de secuenciación hasta el nivel de género, entrenados con secuencias anotadas pertenecientes a la base de referencia GreenGenes. El clasificador realiza esta tarea con un nivel de precisión cercano al 98% y es más rápido que varias de las herramientas consideradas como estándar y frecuentemente utilizadas en ecología microbiana para el mismo propósito. Las secuencias de DNA son numéricamente representadas como proyecciones en un espacio en tres dimensiones para luego ser analizadas utilizando una transformada discreta de Fourier (DFT) con el fin de obtener su espectro y utilizarlo como entrada tanto para entrenar el clasificador como para predecir su taxonomía. El teorema de identidad de Parseval asegura que la similitud entre las representaciones numéricas de dos secuencias de DNA pueda ser comparable a nivel de su espectro de potencias. Este aspecto es evaluado mediante la comparación de un dendrograma mostrando los resultados de una clusterización jerárquica usando la distancia pareada entre los espectros de las secuencias, con otro que fue construido a partir de la matriz de distancias fruto de un alineamiento múltiple (MSA). El rendimiento y asertividad de TAXOFOR respecto a UCLUST, MOTHR y RDP fue evaluado en la asignación taxonómica del mismo conjunto de secuencias de 16S rRNA. Los resultados iniciales son promisorios y definen un espacio de mejora en términos de procesamiento en paralelo y manejo de memoria para grandes volúmenes de datos.

Construcción de bibliotecas proteómicas "In House" de genotipos moleculares de *Cryptococcus* spp Patógenos Humanos.

Juan Sebastián Monroy, Andrés Ceballos, Claudia Parra.

Unidad de investigación en Proteómica y Micosis Humanas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.
Dirección electrónica: j_monroy@javeriana.edu.co

El uso de espectrometría de masas como método de identificación de bacterias y levaduras en el ámbito clínico incluyendo a *Cryptococcus* se ha consolidado. Simultáneamente, en el campo de estudio de *Cryptococcus* se ha propuesto la aceptación de 7 especies distintas (Hagen et al., 2015). Tanto la distinción de especie como la de las variedades han sido caracterizadas mayoritariamente por métodos moleculares. La aceptación de estas clasificaciones impone un reto para el estudio y diagnóstico de la criptococosis. En este momento las bibliotecas de referencia comerciales no incluyen esta distinción entre grupos moleculares. Es por esto que el presente trabajo pretendió construir mediante la tecnología de MALDI-TOF una biblioteca *in-house* para la diferenciación de las variedades moleculares de *C. neoformans* y *C. gattii*. Esta herramienta abre campo a identificaciones más precisas y costo-efectivas que genera conocimiento oportuno en espacios clínicos y de investigación. Objetivos: Construir y evaluar una biblioteca proteómica de espectros de masa con base en cepas genotificadas que representen las variedades moleculares de *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus Gattii*. Materiales y métodos: Utilizando cepas de referencia genotificadas, se construyó una biblioteca proteómica de espectros de masa por medio del Biotyper (Bruker). Las cepas fueron caracterizadas en distintos medios para variar la expresión de proteínas y mejorar la identificación. Posteriormente las cepas de referencia fueron identificadas en la biblioteca establecida. Resultados y conclusión: De las ocho variedades recibidas seis variedades fueron confirmadas por medio de MALDI-TOF. Las discordancias fueron confirmadas con pruebas bioquímicas. Los seis aislamientos confirmados fueron utilizados como modelos para generar una biblioteca proteómica utilizando espectrómetros de masa. La biblioteca ha mostrado ser efectiva en diferenciar las cepas de referencia mediante identificación usando MALDI-TOF.

PRESENTACIÓN DE PÓSTER BOMM 2016

Efecto del uso de antibióticos en ambientes hospitalarios sobre las comunidades microbianas

Posada, CE¹, Reyes, A¹, Ramírez, AA², Anzola, JM², Zambrano, MM², Díaz, L³

1. Grupo de Investigación en Biología Computacional y Ecología Microbiana - BCEM, Universidad de los Andes
2. Corporación Corpogen, Bogotá, Colombia
3. Universidad de El Bosque, Bogotá, Colombia

¿Cómo varía la diversidad de genes de resistencia en aguas según la presión de selección de antibióticos que reciben?

Toma de muestras de aguas en partes del Río Bogotá contaminadas y no contaminadas (después y antes de la ciudad, respectivamente) y de desagües de hospitales (alta presión de selección). Extracción de ADN de alto peso molecular a partir de biomasa recuperada de las aguas. Identificación de genes de resistencia por metagenómica funcional. Análisis de comunidades microbianas por 16S.

Resultados preliminares: Mayor diversidad en aguas no contaminadas, menor diversidad con mayor presión de selección.

Design of culture medium as carrier material for improve the survival of Colombia native probiotic

S. Aragón-Rojas¹ y MX. Quintanilla-Carvajal¹

1. Universidad de La Sabana, Chía, Cundinamarca, Colombia

The probiotic concentration is not stable during the food manufacturing because loss the cell viability. An alternative for the inclusion of microorganisms on food is microencapsulation. The objective was to design a medium using whey and yeast extract, and at the same time use it as a carrier. Fermentation was performed in a 1L bioreactor (pH 5.5) to 37°C, 100 rpm, 10 h. The medium was dried in spray drier at pilot scale: 175°C of inlet temperature, 90°C of outlet temperature and 1.1 bar of atomizing air pressure. Cell counts were taken before and after of process and the gastrointestinal conditions. The probiotic growth 4 Log CFU/mL. The whey promoted cell growth using lactose and denatured proteins as nutrients. After drying, the growth of *L. fermentum* was 9.33 ± 0.03 Log CFU/g and the cell counts decreased -0.26 ± 0.02 Log CFU/g in stomach pH and -1.97 ± 0.46 Log CFU/g in bile salt. The whey protein aggregations might protect the cell, the functional groups of the proteins interact with components of the cell membrane creating a viscous layer, which reduces the mobility of water through the membrane and prevents the cell injure. The results show the opportunity to improve the design of media not only for growth probiotics, but also, for use it as carrier matrix on encapsulation processes using agglomeration and denaturation of proteins.

Identificación de genes lipolíticos a partir de una librería metagenómica de bacterias epífitas de macroalgas de la especie *Ulva lactuca*

Ruíz-Toquica, J.S.¹, Comba-González, N.B.², Montoya-Castaño, D³.

1. Estudiante de Maestría en Ciencias - Microbiología, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. E-mail: josruizto@unal.edu.co
2. Estudiante de Doctorado en Ciencias - Biología, Universidad Nacional de Colombia. E-mail: nbcombag@unal.edu.co
3. Coordinadora del grupo de investigación en "Bioprocesos y Bioprospección". E-mail: dmontoyac@unal.edu.co

Los microorganismos epífitos (aquellos asociados a superficies vivas) se benefician del rango de compuestos orgánicos (carbohidratos, lípidos y proteínas) producidos por el hospedero macroalgal, esto lo hacen mediante la síntesis de enzimas, muchas de las cuales debido a sus características funcionales resultan ser de interés a nivel biotecnológico. Teniendo en cuenta el reciente interés por identificar y expresar enzimas de origen marino, el objetivo de este estudio es confirmar la presencia de genes lipolíticos en clones activos de una librería de fósmidos obtenida a partir de ADN de bacterias epífitas de *Ulva lactuca*. Métodos: A partir de una librería metagenómica construida, se realizaron actividades de sub-clonación para lo cual se extrajeron fósmidos provenientes de clones que mostraron actividad lipolítica, posteriormente el ADN fosmídico fue fragmentado y ligado al vector pJET 1.2. Los sub-clones con actividad positiva fueron identificados por la formación de halos claros en agar Tween 20 y en medio LB suplementado con tributirina (1 % V/V). Resultados: Se obtuvieron 16 sub-clones activos para la actividad de interés. Así mismo, en 4 de estos sub-clones, se logró amplificar mediante PCR insertos de tamaños entre 1800 y 4500 pb que podrían contener los genes responsables de la actividad lipolítica (sin embargo el resultado está sujeto a análisis por secuenciación). Conclusiones: Los análisis de sub-clonación realizados a partir de una librería construida con ADN de bacterias epífitas permitieron identificar clones con actividad lipolítica, este resultado aporta conocimiento en relación a la diversidad funcional existente en bacterias marinas.

Producción de etanol por SSF usando un extracto enzimático producido por hongos filamentosos (*Verticillium* sp. and *Penicillium* sp)

Ivonne Angulo De Castro, Rosa Erlide Prieto Correa.

Universidad de La Sabana - Facultad de ingeniería, Chía 53753, Colombia.

Se tuvo como objetivo la producción de etanol a partir de lodos papeleros usando un extracto enzimático (Ex) producido a partir de *Verticillium* sp. y *Penicillium* sp. por medio de un proceso de hidrólisis y fermentación simultánea (SSF). El Ex (11,62 - 107,6 kDa, previamente aislado de residuos agroindustriales en la sabana de Bogotá), fue empleado sin purificar, para producir azúcares fermentables por medio de hidrólisis enzimática. Los resultados fueron comparados con los azúcares producidos a partir de la enzima comercial (Ec) Cellic®. Se evaluaron los parámetros tiempo de hidrólisis, temperatura, concentración de Ex o Ec y carga de sólidos. El proceso con Ex produjo el 26% y 17% de los azúcares reductores obtenidos con la Ec a 37°C y 45°C respectivamente, bajo las mismas condiciones (18,17% carga de sólidos, 6% concentración de Ex o Ec, 150 rpm y 12 horas). En el proceso se observó un efecto buffer a causa de de las cenizas presentes en el lodo. Las mejores condiciones de hidrólisis se emplearon para una hidrólisis y fermentación simultánea (SSF) con *Saccharomyces cerevisiae*, durante 9 días, permitiendo la producción de 14.60 ±7.4 y 11.18 ±1.9 g/L de etanol con Ex y Ec respectivamente, correspondiente a un rendimiento teórico de 43.12% (g etanol/g hexosas) con Ex y 33.03% con Ec. Estos resultados muestran el potencial del Ex producido con cepas de hongos poco estudiadas en este campo y aisladas de residuos agroindustriales en ambiente colombiano, para la degradación de material lignocelulósico y producción de etanol de segunda generación.

Estudio genético del aislamiento ambiental *Scedosporium apiospermum* HD01 con habilidad para degradar hidrocarburos.

Morales T¹, Vives M², Restrepo S³

1. Estudiante de maestría Universidad de los Andes
2. Vicedecana de Investigación Universidad de los Andes
3. Vicerrectora de Investigaciones Universidad de los Andes

Scedosporium apiospermum es un hongo del filo ascomycota asociado con infecciones humanas y también reportado como degradador de hidrocarburos. El objetivo del trabajo es secuenciar, ensamblar y anotar el genoma de *Scedosporium apiospermum* HD01, cepa ambiental degradadora de hidrocarburos, con el fin de identificar los genes relacionados con vías de degradación de los contaminantes. El genoma fue secuenciado por Novo Gene Technology Bioinformatics Co., Ltd., usando la tecnología Illumina-Solexa en un HiSeq2500 y mediante la construcción de dos librerías: una librería paired-ends de 250 bp y una mate-pairs de 5kpb. Se realizó la limpieza de las lecturas usando Trimmomatic 0.2310 y el control de calidad se hizo mediante Fastqc 0.11.211. El genoma se ensambló utilizando Spades 3.5.012, se generaron los *scaffolds* con SSPACE BASIC 2.013 y los espacios fueron reducidos con GapFiller 1.114. La predicción de genes se hizo mediante Augustus 3.0.317 y la anotación funcional se llevó a cabo mediante Blast2GO 3.118 con BLASTx. Se predijeron 11538 secuencias codificantes y de éstos se le pudo asignar función a 8060 aproximadamente.

Actividad antimicrobiana de secreciones de piel de ranas y su relación con variables bioclimáticas: un estudio nivel inter e intraespecie

Barrero Guevara, L. A.¹, Groot de Restrepo, H.², Amézquita, A.³ y Muñoz Camargo, C.⁴

1. Programa de Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Colombia
2. Laboratorio de Genética Humana, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Colombia
3. Grupo de Ecofisiología, comportamiento y herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Colombia
4. Laboratorio de Genética Humana, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Colombia

Las características de la piel de los anuros la hacen un sustrato perfecto para la proliferación de microorganismos. Al mismo tiempo, este órgano está encargado de la primera línea de defensa contra microorganismos patógenos. Las glándulas granulares son las encargadas de la secreción de moléculas en la piel que protegen a la rana. Algunos estudios indican que la actividad antimicrobiana de las secreciones podría tener una relación con la dinámica poblacional y con su distribución geográfica. Este proyecto desarrolló dos preguntas de investigación. La primera, sobre microbiología, tuvo como objetivo la evaluación de la actividad antimicrobiana de las secreciones de piel de varias especies de ranas. La segunda, sobre biología, radicó en identificar si existe una relación entre esta actividad antimicrobiana con las variables bioclimáticas del lugar de origen de las ranas. Adicionalmente, se realizaron dos análisis: el primero a nivel interespecífico para identificar la relación de su correspondiente actividad antimicrobiana con el ambiente en que se desarrolla cada especie. El segundo análisis, a nivel intraespecífico, fue realizado con varios individuos de *Hypsiboas crepitans*. Los resultados de este proyecto confirmaron la gran variación de la actividad antimicrobiana que existe tanto a nivel interespecífico, como a nivel intraespecífico. En ambos análisis se encontraron correlaciones positivas significativas entre la actividad antimicrobiana con la temperatura promedio anual, la temperatura promedio anual con la humedad y el rango diurno de temperatura. Esto podría dar indicios sobre la explicación para la variación de la actividad antimicrobiana de las secreciones de piel de ranas entre diferentes especies de ranas como dentro de una sola especie.

Evaluación de la actividad anti *Batrachochytrium dendrobatidis* por parte de la microbiota presente en la piel de dos especies de ranas andinas

Escobar-Ibarra, L.A¹. & Flechas, S.V.²

1. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana
2. Department of Biological Sciences, Universidad de los Andes

La quitridiomycosis es una de las causas de la extinción masiva de los anfibios a nivel mundial. Pese a la letalidad que ha mostrado esta enfermedad, existen poblaciones de anuros que cohabitan con el hongo que la causa (*Batrachochytrium dendrobatidis*-Bd), sin presentar disminuciones poblacionales. Se cree que la microbiota presente en la piel de estas poblaciones puede presentar un efecto inhibitorio sobre Bd. El objetivo de esta investigación fue determinar la actividad anti-Bd de la microbiota cultivable presente en la epidermis de dos especies de ranas que co-ocurren con el hongo en una charca en el municipio de Ubaque, Cundinamarca (Colombia). Para recuperar una mayor diversidad de microorganismos se usaron dos medios de cultivo. Posteriormente, se evaluó la actividad antagónica de las especies aisladas a través de microensayos en placas de Elisa. En total se obtuvieron 615 morfotipos clasificados (mediante MALDITOF y el gen ARNr 16S) en 93 especies pertenecientes a 35 géneros. Los géneros mejor representados fueron *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Chryseobacterium*, y *Arthrobacter*. Se encontraron diferencias en la composición de la microbiota entre las especies de anuros. En cuanto a las pruebas de antagonismo, el 52% de las especies identificadas presentaron actividad anti-Bd, con diferencias entre las especies de anuros y sus estadios de desarrollo. Esto indicaría que la microbiota epidérmica cultivable tiene una capacidad antifúngica que confiere la resistencia y permite que estas dos especies de anfibios coexistan con el hongo, sin embargo, las especies que cumplen un efecto en la inhibición de Bd varían dependiendo del estadio.

Estudio de la Síntesis de Ramnolípidos y Metabolitos Asociados en *P. aeruginosa* PAO1 a partir de Glicerol crudo

Taboada Ruiz, M.N¹; Barragán Cárdenas, A.C.²

1 Candidata Doctoral Biotecnología Universidad Nacional de Colombia.

2 Estudiante Biología Universidad El Bosque

Pseudomonas aeruginosa sintetiza grandes cantidades de ramnolípidos con características de baja toxicidad, actividad superficial, carácter biodegradable, entre otras; permitiéndoles adaptarse a una gran variedad de demandas industriales como agronomía, biorremediación, productos farmacéuticos, cosméticos y de limpieza. Destacando que el precio de los ramnolípidos (95% de pureza) es de 227 dólares/10mg, la investigación se ha enfocado en microorganismos hiperproductores, disminución de costos en la materia prima y optimización de su producción, lo cual conlleva al empleo del glicerol crudo proveniente de la industria del biodiesel como materia prima para la síntesis de ramnolípidos otorgándole valor agregado a dicho subproducto, evitando que contamine el medio ambiente.

Para estudiar la bio-producción de ramnolípidos a partir de glicerol crudo, se ensayaron medios de cultivo que promueven su síntesis, analizando el consumo de glicerol mediante HPLC, la presencia de enzimas y genes involucrados tanto en la producción de ramnolípidos como aquellos presentes en las principales rutas competitivas en relación a los precursores claves. Dichos metabolitos se determinaron cuali-cuantitativamente a través de métodos como Orcinol, tinción con Sudán Negro y Oil Spreading. Se evidenció por electroforesis SDS-PAGE y NATIVE-PAGE la presencia de las enzimas ramnosiltransferasa-I y PHA-sintasas I y II; mediante PCR se encontraron bandas de peso molecular que corresponderían a los genes *phaC1*, *phaC2*, *phaG* y *glpR*, implicados en el metabolismo de ramnolípidos, polihidroxicanoatos y glicerol. Se concluye que *P. aeruginosa* PAO1 tiene la capacidad de producir los compuestos de interés al crecer en medio industrial conteniendo glicerol crudo como principal fuente de carbono.

Evaluación de la actividad biológica y dereplicación química de hongos aislados de ambientes marinos

AR Romero¹, CA Boya², M Gutiérrez², C Spadafora³, IA García⁴, N Moreno^{4, 5}, F Ramos¹, L Castellanos¹

1. Estudio y aprovechamiento de productos naturales marinos y frutas de Colombia, Departamento de Química-Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, Colombia
2. Centro de Descubrimiento de Drogas y Biodiversidad, Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología, Panamá
3. Centro de Biología Molecular y Celular de Enfermedades, Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología, Panamá
4. Instituto de Biotecnología (IBUN)-Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, Colombia.
5. Departamento de Ingeniería Química y Ambiental-Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, Colombia.

Aunque la química de los microorganismos se viene estudiando desde la primera mitad del siglo XX, en los últimos 15 años ha habido un aumento considerable en el número de investigaciones. En el país, las investigaciones en compuestos de origen natural a partir de microorganismos hasta ahora están comenzando y hasta nuestro conocimiento, esta propuesta representa el primer estudio sistemático de la diversidad química de hongos provenientes de ambientes marinos. Así, con el ánimo de contribuir a la búsqueda de fuentes de compuestos con actividad biológica aprovechable, en este trabajo se evaluó la actividad antimicrobiana contra bacterias fitopatógenas (contra *Burkholderia glumae*, *B. gladioli*, *B. platarii*), la actividad antiparasitaria (contra *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania donovani*) y citotóxica (contra líneas celulares de cáncer de mama MCF-7) de un panel de hongos obtenidos de muestras marinas cultivados en dos medios diferentes.

A partir de ensayos de antimicrobianos y análisis por HPLC-DAD-ELSD, se seleccionaron las muestras para realizar ensayos de citotoxicidad, de actividad antiparasitaria y análisis por HPLC-MS/MS. Estos análisis permitieron el uso de técnicas de derreplicación química utilizando dos métodos, derreplicación directa y la construcción de redes neurales. Los resultados de la derreplicación y los resultados de actividad junto con la identificación molecular de los hongos nos permitieron la selección de uno de ellos para el estudio de la composición química de su extracto. Estos resultados sugieren el enorme potencial biotecnológico de los hongos obtenidos de este ambiente poco explorado en nuestro país.

Identificación de secuencias génicas relacionadas con control de insectos en genomas de extremófilos

J. L. Palacio Romero, L. F. Pantoja, J. Vanegas, S. A. López-Pazos*

Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño, Cra 3 Este # 47 A-15 Bogotá D.C.
(Colombia)

* Autor para correspondencia: alejandrolopezpazos@uan.edu.co

La papa colombiana es atacada por la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (*Lepidoptera: Gelechiidae*), con daños directos de 20%. En su control se usan agroquímicos tóxicos. Los microorganismos extremófilos (MEs) están adaptados a nichos inhabitables para otros seres: fuentes hidrotermales, campos sulfatados, o sitios con desechos nucleares. Las características de MEs permiten su uso en biorremediación, medicina o industria, pero no hay avances en control de plagas con estos. OBJETIVO: Identificar MEs con información génica de perspectiva contra *T. solanivora*. METODOLOGÍA: Se estableció la cría del insecto, y un método de bioensayo usando la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis kurstaki*. Se establecieron genes insecticidas mediante revisión bibliográfica, y sus correspondientes secuencias se identificaron a partir de genomas de MEs. RESULTADOS: Se estandarizó la cría del insecto que soporta todos los estadios. La dieta presentó supervivencia superior al 90%. La evaluación con la *B. thuringiensis kurstaki* indicó mortalidad del 70% a concentración de proteína de 2 ug/ml. Se identificó secuencias similares a proteínas insecticidas en genomas microbianos incluyendo cinco extremófilos: *Polaromonas* sp., *Natrinema pellirubrum*, *Halomonas xinjiangensis*, *Desulfuromonas* sp., y *Mariprofundus ferrooxydans*. CONCLUSIÓN. Esta iniciativa proveería alternativas para control de *T. solanivora*, y aporta perspectivas en biotecnología de extremófilos.

Actividad antibacteriana, citotoxicidad y degradación microbiana in vitro de suturas no absorbibles tipo poliuretano

Uscátegui, Y.L.; Díaz, L.E.; Valero, M.F.

Grupo de Investigación en Energía, Materiales y Ambiente, Programa de Ingeniería Química, Universidad de La Sabana, Chía, Colombia.

Actualmente, adicional a la resistencia a la tracción, alta flexibilidad y facilidad de desplazamiento a través de los tejidos, las suturas no absorbibles deben presentar propiedades adicionales como prevenir la colonización bacteriana, que no sean tóxicas y que sean biodegradables. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la concentración de policaprolactona (PCL) sobre la actividad antibacteriana *in vitro*, la citotoxicidad y la posible degradabilidad bacteriana de suturas no absorbibles tipo poliuretano (PU). Se emplearon PUs sintetizados con aceite de higuera, PCL y diisocianato de isoforona en una relación 1:1 de NCO/OH. Se determinó la actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La citotoxicidad *in vitro* fue evaluada por el método ISO 10993-5 en fibroblastos embrionarios de ratón L-929 por contacto directo con PUs y NIH/3T3 con extractos de los PUs. Se evaluó la degradabilidad *in vitro* con *E. coli* y *P. aeruginosa* por medio de la variación de peso de los polímeros. Se observó actividad biocida contra bacterias Gram negativas de los PUs evaluados. Los fibroblastos L-929 y NIH/3T3 presentaron viabilidad celular luego de estar en contacto con los PUs y con los extractos de los mismos. Todos los materiales poliméricos presentaron porcentajes de biodegradación por *E. coli* y *P. aeruginosa*. Además de cumplir con las propiedades mecánicas deseables de los materiales como suturas no absorbibles, fue evidente la actividad antibacteriana frente a bacterias Gram negativas, la no toxicidad y la biodegradación, lo cual sugiere que estos materiales pueden ser empleados en aplicaciones biomédicas.

Aislamiento de bacterias halófilas Nativas para determinar su potencial en la biorremediación de suelos salinos.

Monica Alejandra Rodríguez Aristizabal

Bacteriologa ef, microbiología ambiental, estudiante de Maestría en Ciencias Ambientales Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A

La salinización se entiende como el proceso de degradación química del suelo caracterizado por la acumulación de altas concentraciones de sal, como consecuencia de procesos de origen natural y/o antrópico. La salinización es un problema que afecta millones de hectáreas en el mundo, en climas húmedos, subhúmedos y en los climas secos. En este contexto la búsqueda de alternativas para recuperar suelos salinos o disminuir el riesgo de salinización se ha convertido en un reto. Frente a esta situación surgen técnicas como la biorremediación, que se ha consolidado en los últimos años como una opción para recuperar ambientes contaminados, de acuerdo con esto las altas concentraciones de sal podrían ser disminuidas por microorganismos como las bacterias halófilas presentes en muchos sistemas ecológicos del mundo. Este trabajo tuvo como objetivo el aislamiento de bacterias halófilas nativas de ambientes hipersalinos en Colombia, específicamente en el municipio de Manaure en la Guajira, para determinar cualitativamente su potencial en la recuperación de suelos salinos. Se realizó el aislamiento en Agar Nutritivo con una modificación en la concentración de sales, específicamente Cloruro de Sodio y Sulfato de Sodio, obteniendo crecimientos abundantes para 5 cepas de bacterias diferentes, en concentraciones salinas hasta del 9%. Adicionalmente se realizaron siembras en medios de cultivo específicos, para orientar la identificación de las cepas por medio de características fisiológicas. Con estos resultados se puede concluir que estas bacterias aisladas de ambientes hipersalinos podría tener alto potencial para la biorremediación de suelos salinos o ambientes contaminados con altas concentraciones de sal, por lo cual se convierte en un punto de partida para diferentes investigaciones.

Búsqueda de compuestos biosurfactantes producidos por bacterias aisladas de ambientes marinos

J.D. Cárdenas; S.J. Naranjo; L.A. Betancur; F.A. Ramos; L. Castellanos

Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia

Los biosurfactantes son moléculas de carácter anfipático producidas por bacterias y hongos al medio extracelular o como parte de su membrana celular, estos compuestos son de amplio interés debido a su alta biodegradabilidad, baja toxicidad, alta biocompatibilidad para su uso en productos de consumo humano y animal, además de la posibilidad de ser obtenidos de fuentes renovables a partir de sustratos económicos para su producción.

En este trabajo se utilizaron 8 aislamientos bacterianos con el objetivo de seleccionar al menos una capaz de producir compuestos biosurfactantes. Para ello se llevó a cabo la reactivación de las cepas bacterianas que se encontraban crioconservadas, las cuales habían sido previamente recolectadas en las islas de Providencia y Santa Catalina, creciendo los microorganismos en placas de agar de 4 medios diferentes (LB, ISP2, AN y ACA), la selección del medio de cultivo adecuado para la obtención de extractos, la prueba de actividad surfactante para identificar las cepas más activas y el análisis por HPLC, LC-MS, GC-MS y RMN con el fin de obtener información estructural de los compuestos responsables de la actividad surfactante. Los resultados mostraron que los extractos provenientes de los aislamientos PNM24.2 y PNM115 fueron los extractos más activos. Los extractos fueron analizados por LC-MS, GC-MS y RMN, encontrando principalmente la presencia de ácidos grasos saturados e insaturados. Con este trabajo es posible evidenciar la viabilidad que presentan los microorganismos como una fuente sustentable de compuestos de gran interés para la industria.

Actividad antimicrobiana de la fracción procariota cultivable de las salinas de Manaure, La Guajira, Colombia

Natalia Conde-Martínez, Alejandro Acosta González, Edisson Tello Camacho.

Universidad de La Sabana

Uno de los ambientes marinos extremos que ha sido recientemente investigado por su diversidad microbiana y sus aplicaciones industriales promisorias son las salinas artificiales obtenidas por evaporación de agua de mar. La actividad antimicrobiana de los extractos de dichos ambientes hasta ahora se está empezando a investigar, encontrándose pocos estudios relacionados con la actividad biológica. En Colombia, las salinas más importantes y representativas se encuentran en Manaure, en la región de La Guajira. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antimicrobiana y de quorum quenching de la comunidad procariota cultivable que habitan estas salmueras. Las muestras de agua y sedimento de tres salmueras diferentes (con salinidades 4%, 9% y 15%) se inocularon en siete medios de cultivo diferentes para procariotas, lo que permitió el crecimiento de 40 consorcios diferentes. Cada consorcio se extrajo con acetato de etilo y las fracciones orgánicas se sometieron a rotoevaporación. Los extractos fueron evaluados contra patógenos resistentes a múltiples fármacos *Klebsiella pneumoniae* (ATCC® 700603TM), *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina (VRE, ATCC® 700221TM) y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA, ATCC® BAA-44TM). *Bacillus subtilis* (ATCC® 21556TM) también fue evaluado para la actividad antimicrobiana. El biosensor *Chromobacterium violaceum* (ATCC® 31532TM) se utilizó para los ensayos de quorum quenching. Los resultados mostraron que 24 de los 40 extractos evaluados tienen actividad frente a *B. subtilis*, y dos de ellos, aislados del pozo con salinidad del 4% mostraron actividad frente a MRSA (P-29 y P-36). Adicionalmente, P-29 mostró inhibición del quorum sensing en *C. violaceum*.

Roles funcionales de comunidades microbianas y cambios en la expresión génica de las almendras de cacao durante el proceso de fermentación

Dávila-Mora¹, L. y Caro-Quintero, A².

1. davila@corpoica.org.co, 2. acaro@corpoica.org.co
Corporación colombiana de investigación agropecuaria (Corpoica). Km 14 Vía
Mosquera, Colombia.

La fermentación de los granos de cacao es un proceso espontáneo, cuyo objetivo es obtener almendras con características de sabor y aroma aptas comercialmente. Este proceso está dado por la interacción entre las almendras de cacao con los microorganismos al entrar en contacto con el ambiente luego de la apertura de la mazorca. Productos del metabolismo microbiano como el ácido acético y el etanol reprimen la germinación y afectan la expresión y activación de enzimas en el cotiledón. Estas enzimas junto con sustratos endógenos migran desde el cotiledón hacia el ambiente externo, una vez se debilitan las membranas internas y la testa de la almendra, dando lugar a reacciones bioquímicas como la hidrólisis de sacarosa y la oxidación de polifenoles, lo que resulta en la producción de importantes precursores de sabor. El objetivo de este estudio es conocer los roles funcionales y las principales rutas metabólicas en las que están involucrados estos microorganismos, así como determinar qué enzimas se expresan en el cotiledón, con el fin de generar conocimiento y diseñar estrategias de manejo en pos cosecha que permitan obtener cacao de buena calidad. Para esto se usaron metodologías de extracción de ADN y ARN de las almendras de cacao colectadas en diferentes regiones productoras del país, a partir de las cuales se realizarán análisis de metagenómica y transcriptómica, con el fin de conocer tanto la diversidad microbiana como la expresión de genes en los granos de cacao durante el proceso de fermentación, lo que en conjunto influye en la calidad del producto final.

Evaluación de la microbiota nativa cromo-tolerante proveniente de los biosólidos de la PTAR San Fernando.

Quiroz Salazar L.F; Montoya Campuzano O.I; Ruiz Villadiego O.S

Universidad Nacional de Colombia sede Medellín

El cromo es un metal pesado presente en diferentes formaciones rocosas y ambientes naturales, generalmente se encuentra en estado trivalente (Cr^{3+}) o hexavalente (Cr^{6+}) donde el Cr^{6+} es el más tóxico (Prigione et al., 2009). En las últimas décadas, y con el incremento de las actividades antrópicas, su concentración ha aumentado significativamente, generando un impacto negativo en el ambiente y en la salud de los diferentes organismos vivos. Entre las principales fuentes de acumulación de cromo, se destacan las aguas residuales, que al pasar por un tratamiento, involucran la generación de un co-producto conocido como biosólido; el cual, puede ser aprovechado como abono orgánico, siempre que cumpla con los criterios establecidos por cada nación. La PTAR San Fernando, se ve limitada en el uso de los biosólidos a causa de la concentración de cromo en éstos. Teniendo en cuenta el sobre costo que implica remover químicamente el cromo del biosólido, se plantea como alternativa aprovechar la capacidad que presentan algunos microorganismos para remover y reducir el cromo. Se aislaron 16 hongos con tolerancias entre 400 - 1000 ppm de Cr^{6+} y 30 bacterias con resistencia entre 400 - 600 ppm de Cr^{6+} . A partir de muestras de biosólidos tomadas durante el mes en el cual se reporta mayor concentración de éste metal en la PTAR, éstas fueron suspendidas y cultivadas en medio un nutritivo, a diferentes concentraciones de cromo. Además, de otros 10 hongos obtenidos del ambiente.

Study of inhibitory volatile compounds of Quorum Sensing produced from marine bacteria by GC-MS

Pino, A.*¹, Sinuco DC.*¹, Naranjo S.*², Castellanos L.*², Ramos FA.*²

*Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

1. Grupo de bioprospección de compuestos volátiles

2. Grupo de Estudio y Aprovechamiento de Productos Naturales Marinos y Frutas de Colombia.

Volatile organic compounds produced by bacteria (bVOCs) have been associated as participants in bacterial communication processes, including as inhibitors of quorum sensing (IQS) in different bacteria. Therefore the study of these compounds suggests an interesting field for the research of substances with biological activity. The aim of this paper seeks tentative identification of compounds emitted by the bacteria 216, a Gram negative bacillus from marine origin, which has the IQS effect.

To test whether there was an IQS effect, the 216 bacteria and the biosensor *Chromobacterium violaceum* ATCC 31532 were inoculated on LB agar only maintaining contact by its headspace (HS). It was considered an IQS effect if a decrease in production of violacein was observed after 24 hours of inoculation, compared with its control (inoculum of *C. violaceum* without 216 bacteria). If this effect was evident, the headspace of the 216 bacteria was analyzed by exposing a DVD/CAR/PDMS fiber, during the first, fifth and tenth day of the inoculum on LB agar. Uninoculated LB agar was used as blank. The compounds trapped in the fiber were tentatively identified using GC-MS by its mass spectrum and Kovats index.

As a result a wide variety of volatile compounds released by the bacteria, such as ketones, terpenes and organosulfur compounds were observed, bVOCs also showed differences depending to the elapsed time after the inoculum. Further studies are required in order to identify bioactive compounds.

Resistencia a temperatura y radiación UV de cepas microbianas asociadas a *Espeletia* sp.

García C., Posada L., Acosta I.C., Ruiz C. A., Zambrano M. M.

Corporación Corpogen, Bogotá, Colombia

El ecosistema de páramo en los Andes colombianos tiene condiciones extremas como alta radiación UV y cambios rápidos de temperatura durante el día, que ejercen presión selectiva en plantas, como *Espeletia* sp., y en la microbiota asociada a ellas, generando adaptaciones que permitan su supervivencia. Por lo anterior, el objetivo del estudio fue evaluar las adaptaciones a radiación UV-C y diferentes temperaturas de cepas microbianas asociadas a *Espeletia* sp. Para esto se identificaron y caracterizaron morfológica y molecularmente 50 cepas, se expusieron a fluencias entre 50 y 800 J/m² de radiación UV-C y se probó su resistencia a temperaturas de -20, 4, 45 y 55°C. Aquellas cepas que resistieron fueron seleccionadas y se evaluó su capacidad de sobrevivir a cambios de temperatura entre -20 y 37°C. De las cepas analizadas, únicamente una bacteria, *Deinococcus swuensis*, sobrevivió en un 95% cuando fue expuesta a 800 J/m². Con respecto a las temperaturas, 20 cepas crecieron a 4°C mientras que únicamente 13 cepas fueron capaces de sobrevivir tras siete días de congelación en medio TSB. Se evaluó la resistencia a cambios de temperatura en dos cepas seleccionadas (*Hannaella oryzae* y *Burkholderia glathei*) y se observó supervivencia mayor al 100% en ambos casos. Adicionalmente, se encontraron 11 cepas capaces de crecer a 45 y 55°C, cuya resistencia en biopelícula o estado planctónico depende de la cepa. En conclusión, a través de este trabajo fue posible identificar cepas tanto bacterianas como de levaduras que poseen adaptaciones a radiación UV y temperaturas altas y bajas.

La separación por tamaño celular como una herramienta para mejorar la caracterización de la diversidad, función y abundancia del microbioma ruminal

Hernández R^{1,2}., Jiménez H²., Reyes A¹., Caro-Quintero A²

1 Laboratorio de Biología Computacional y Ecología Microbiana BCEM, Universidad de los Andes.

2 Corporación colombiana de investigación agropecuaria (Corpoica). Km 14 Vía Mosquera, Colombia.

La ganadería es una de las actividades económicas más importantes del país. La productividad de este sistema depende de la alimentación. Los bovinos dependen de la comunidad de microorganismos del rumen para la degradación de la celulosa y lignina presentes en los pastos. Existe interés en el uso de aditivos alimenticios y probióticos que modulen la estructura microbiana del rumen, para mejorar la productividad, la salud animal y disminuir los impactos ambientales. Las metodologías para monitorear el efecto de estos tratamientos, como métodos metagenómicos basados en amplicones, presentan sesgos que no permiten hacer un censo real y discriminatorio de la diversidad de microorganismos en distintas abundancias, tamaños y especialidades funcionales. Por estas razones, el método de separación por medio de un gradiente de densidad de sacarosa pretende mejorar el monitoreo del rumen al fragmentar la comunidad por tamaño celular, previo a la extracción de ADN.

Para contrastar la diversidad y abundancia de la comunidad microbiana obtenida por métodos tradicionales y por la separación de tamaño, se preparó un gradiente de sacarosa (siete fases, desde 5% hasta 70%) que se probó en tres muestras de líquido ruminal. Los resultados se validaron por microscopía electrónica y por citometría de flujo para cada concentración. En las concentraciones más bajas (menor densidad) se observaron los microorganismos más pequeños como bacterias, mientras que las concentraciones más altas (mayor densidad) están dominadas por hongos y protozoarios. La abundancia relativa y diversidad de ambas metodologías será comparada utilizando marcadores moleculares para la identificación de los diferentes microorganismos.

Microbiota intestinal de larvas y adultos de *Anopheles albimanus* colectados en Bahía Solano - Pacífico Colombiano

Paula A. Urrea¹, Stefani A. Piedrahita¹, Yadira Galeano-Castañeda¹, Priscila Bascuñán¹, Margarita M. Correa¹.

Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

La malaria es causada por parásitos Plasmodium y es transmitida a los humanos por mosquitos del género Anopheles. En Colombia existen tres vectores principales, uno de ellos es Anopheles albimanus. La microbiota del intestino del mosquito influye en el ciclo de vida del parásito y su análisis puede contribuir a la identificación de bacterias candidatas para el control biológico o paratransgénico; sin embargo, se desconoce la composición de la microbiota intestinal de los vectores de malaria en Colombia. En este estudio se analizó la microbiota intestinal de larvas y adultos de An. albimanus colectados en Bahía Solano, Departamento del Chocó, Pacífico Colombiano. Se colectaron adultos y larvas de cuarto estadio. Los especímenes correspondientes a An. albimanus se determinaron por PCR-RFLP-ITS2. Se disectó y maceró el intestino en condiciones estériles, para luego realizar la caracterización fenotípica de las bacterias obtenidas por métodos dependientes de cultivo. Se encontró una riqueza similar de morfotipos bacterianos en larvas y adultos. La composición bacteriana fue de 6,7% para cocobacilos Gram negativos, 13,3% bacilos Gram negativos, 33,3% bacilos Gram positivos y 46,7% bacilos Gram positivos esporulados, siendo el género *Bacillus* el morfotipo predominante en ambos estadios de An. albimanus. En general, se identificó que larvas y adultos compartían dos morfotipos; este hallazgo es importante debido a que la transmisión trans-estadial es una característica relevante en bacterias usadas para control paratransgénico. La secuenciación por Illumina Mi-Seq complementará la información obtenida por métodos dependientes de cultivo.

Selección de aislamientos bacterianos productores de moléculas señal tipo N-acil homoserina lactonas (AHLs) asociados a cultivos de papa como estrategia de control biológico contra *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae)

Pantoja L^{1*}, Boyacá-Vásquez J², López-Pasos S², Vanegas J², Palacios J.²

1. Universidad Nacional de Colombia, Maestría en Biotecnología

2. Universidad Antonio Nariño, Facultad de Ciencias.

*Contacto: javanegas100@uan.edu.co

La papa es el cuarto alimento básico en el mundo y en Colombia representa el quinto lugar de la producción agropecuaria. El sector enfrenta una crisis de productividad causado por diversos factores como es el uso de productos químicos para el manejo de plagas y enfermedades, los cuales puede representar hasta el 50% de los costos de producción. La aplicación de biopesticidas como las *Pseudomonas* rizosféricas es una alternativa prometedora ya que permite el control de insectos y mejorar la nutrición del cultivo. Sin embargo, se desconoce la participación de moléculas señal como las N-acil homoserina lactonas (AHLs) sobre mecanismos de patogenicidad frente al insecto. Mediante los biosensores *Chromobacterium violaceum* CV026 y *Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (pZLR4) se detectó la producción de AHLs de aislamientos asociados a cultivos de papa provenientes del medio de cultivo Cetrimide. Se evaluaron 124 aislamientos de los cuales 17 presentaron crecimiento en medio King B y producción de AHLs. Se determinó la actividad proteolítica, quitinolítica y móvil con resultados de tres, nueve y doce aislamientos positivos respectivamente. Tres aislamientos presentaron actividad entomopatógeno contra *Tecia solanivora*. Los resultados muestran que la abundancia de aislamientos productores de AHLs es baja en comparación con otros trabajos que reportan que más del 50% de cepas son productoras de AHLs. El potencial entomopatógeno de los aislamientos sugiere un adecuado sistema de selección fundamentado en la detección de AHLs y su relación con factores de patogenicidad para el control de *T. solanivora*.

Análisis comparativo de microbiota intestinal de osos de anteojos silvestres y en cautiverio mediante secuenciación del 16S

Andrea Borbón, Alejandro Reyes, Martha Vives, Susana Caballero

Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

El oso de anteojos es una especie endémica de los Andes tropicales que se encuentra categorizada como Vulnerable según la IUCN y enfrenta diversas amenazas a su estado de conservación, causando declives poblacionales. Recientemente, se ha planteado el uso del estudio de microbiota intestinal en contextos de conservación, debido a la interacción que tiene con la salud del hospedero. Diversos estudios han determinado que existe una reducción en la diversidad de la microbiota intestinal en individuos en hábitats degradados y en condiciones de cautiverio, lo cual se relaciona con el desarrollo de diferentes enfermedades. El objetivo de este proyecto es comparar la composición de la microbiota intestinal en individuos en cautiverio de osos de anteojos con respecto a individuos silvestres. Muestras fecales de osos silvestres y en cautiverio fueron obtenidas, el ADN fue extraído y la región V4 del 16S fue amplificada para la posterior construcción y secuenciación de librerías en el Ion PGM. En cuanto a composición y diversidad, se obtuvo una reducción para los individuos en cautiverio comparados con individuos silvestres. Además, para osos silvestres se observa mayor variación en la composición de la microbiota intestinal intra-grupo, mientras que para osos se observa una composición más homogénea entre todos los individuos, lo que podría estar relacionado con la amplitud de nicho observada para individuos silvestres con respecto a la baja diversidad de dieta en cautiverio. Considerando que los planes de conservación *ex situ* e *in situ* deben contemplar aproximaciones multifacéticas, las variaciones en la microbiota intestinal deberían ser tenidas en cuenta para el monitoreo de la salud de individuos y evaluación de calidad de hábitat.

Expansión multiclonal de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos en instituciones de alto nivel de complejidad de Medellín

Ana M. Ocampo¹, Liang Chen², Astrid V. Cienfuegos¹, Gustavo Roncancio³, Barry N. Kreiswirth², J. Natalia Jiménez¹

1. Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Microbiología Básica y Aplicada, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia
2. Public Health Research Institute Center, New Jersey Medical School - Rutgers. The State University of New Jersey.
3. Clínica CardioVID, Medellín, Colombia

La diseminación mundial de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos (CR-Kp) se ha asociado con el clon ST258 y sus variantes relacionadas (Grupo clonal -CG258). Este trabajo se propone describir la epidemiología molecular de CR-Kp en cinco hospitales de alta complejidad de Medellín.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se incluyeron todos los pacientes infectados por CR-Kp entre 2012 y 2014 (n=193). Se recolectaron características clínicas de los pacientes, se realizó detección de carbapenemasas por PCR y tipificación molecular mediante PCR en tiempo real específica para detectar el CG258, PFGE y MLST.

RESULTADOS; De manera interesante, 62.2% (n=120) de los aislamientos pertenecieron a ST no relacionados con el CG258 (NO-CG258). KPC-3 predominó en los aislados del CG258 (86.3%), mientras que KPC-2 predominó en NO-CG258 (75.5%) ($p < 0,001$). El CG258 presentó mayor multirresistencia (91.4% vs. 56.1%, $p < 0,001$). Dentro de este grupo, El ST512 fue el más relevante (96.3%), mostrando pulsotipos estrechamente relacionados y genes de resistencia similares, lo que sugiere la propagación clonal de esta cepa. En contraste, dentro de los NO-CG258 se observó una alta heterogeneidad de ST (34/54), incluyendo ocho ST nuevos. Entre los NO-CG258, los ST14 (13.3%, n=16) y ST307 (14.2%, n=17) fueron los más frecuentes, y mostraron características moleculares y clínicas distintas a las encontradas en el CG258.

CONCLUSIÓN: Los resultados sugieren que la diseminación de la resistencia en Medellín se debe principalmente a clones heterogéneos de CR-Kp, probablemente como resultado del ingreso de KPC en diferentes linajes no relacionados, lo cual favorece la endemidad y representa un desafío para el control de la resistencia.

Identificación y potencial bioprospectivo de actinobacterias aisladas de sedimentos del río Arauca, Colombia

C. Arango¹; A. Acosta-González¹; C.M. Parra³; Z.A. Sanchez³; K. Russel²; C. Duque¹ y L.E. Díaz¹

1. Grupo de Investigación en Bioprospección (GIBP), Universidad de La Sabana, Chía, Colombia
2. Marine Natural Products Lab, University of Prince Edward Island, Canada
3. Unidad de Investigación en Proteómica y Micosis Humanas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

En Colombia, el aislamiento de actinobacterias se ha llevado a cabo principalmente a partir de muestras de suelo pero poco se conoce acerca de la diversidad y potencial bioactivo de las mismas en otro tipo de entornos, como por ejemplo ambientes asociados a ríos. Bajo este escenario, nuestro estudio se centró en la evaluación de la diversidad de actinobacterias cultivables aisladas a partir de sedimentos de riberas del río Arauca, mediante diferentes pretratamientos físico-químicos y uso de nuevas tecnologías de identificación como MALDI-TOF. Los pretratamientos físico-químicos utilizados fueron: carbonato de calcio, fenol 1,5%, microondas, sonicación y calor. 790 aislados fueron obtenidos y llevados a análisis por MALDI-TOF MS (Bruker Microflex) para la detección de los grupos de similitud por perfiles proteicos. Adicionalmente, los aislados fueron llevados a ensayos antimicrobianos utilizando como cepas patógenas: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC® 700603TM), *Staphylococcus aureus*-MRSA (ATCC® BAA-44TM), *Enterococcus faecium*-VRE (ATCC® 700221TM), *Bacillus subtilis* (ATCC 21.556) y tres aislados clínicos de hongos dermatofitos. 135 aislados mostraron actividad antibacteriana y de éste grupo 78 cepas (57,77%) presentaron actividad antifúngica. Únicamente los aislados con bioactividad antimicrobiana fueron llevados a identificación por 16S rRNA. Aunque esta investigación todavía está en curso, se espera que la toma de muestras en un tipo diferente de hábitat como sedimentos de río, el uso de diferentes estrategias metodológicas de aislamiento y el análisis de grupos de similitud por perfiles proteicos, puedan resultar en un mayor conocimiento de la riqueza microbológica e identificación de aislados de actinobacterias con potencial biosprospectivo.

Identificación de genes mediadores de resistencia a antibióticos en aislamientos colombianos de *Acinetobacter baumannii* causante de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS)

Prada-Cardozo DA¹, Pérez-Cardona H¹, Rincón V¹, Saavedra-Rojas SY³, Duarte-Valderrama C³, Moreno J³, Reguero MT¹, Mantilla JR¹, Valenzuela EM¹, Falquet L², Barreto-Hernández E¹.

1. Grupo de Bioinformática y Epidemiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia.
2. Unidad de Bioquímica y Bioinformática, Universidad de Fribourg. Suiza.
3. Grupo de Microbiología. Instituto Nacional de Salud. Bogotá-Colombia.

La resistencia a antibióticos es un problema de salud pública a nivel mundial. Nuevos mecanismos de resistencia aparecen gracias a la habilidad que poseen las bacterias de adaptarse a cambios en el ambiente y de diseminarlos rápidamente. En América Latina, la alta prevalencia de cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a múltiples fármacos es causa de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) (Galeset al., 2012; Opazoet al., 2012; Pillionettoet al., 2014). La secuenciación del genoma completo en bacterias multirresistentes es una alternativa a las pruebas de sensibilidad fenotípica y para el seguimiento de clones causantes de IAAS. En este estudio, se realizó la identificación de los genes mediadores de resistencia a antibióticos en las secuencias de los genomas completos. Se evaluaron 40 aislamientos de *Acinetobacter baumannii* pertenecientes al cepario del Instituto Nacional de Salud, obtenidos de 10 departamentos de Colombia en el periodo de 2012 a 2015. Para ello, se realizó la evaluación de la resistencia fenotípica mediante la prueba de Kirby Bauer y la secuenciación de los genomas completos por medio de la tecnología Illumina (Hiseq 2000). Posteriormente, los genomas fueron ensamblados (Spades, Bankevich et al., 2012) y anotados mediante el programa Prokka (Seemann, 2014). Una vez, se realizó la tipificación molecular mediante MLST-1.8 (Multilocus Sequence Typing), se hallaron 39 aislamientos pertenecientes a *Acinetobacter baumannii* los cuales se agruparon en 6 diferentes tipos (ST), en los cuales ST-79 (50%) y ST-25 (27,5%) constituyeron los clones predominantes y uno de los aislamientos correspondió a *Acinetobacter pittii*, cepa ST-667. En los genomas se identificó un total de 37 diferentes genes asociados a multirresistencia a antibióticos usando un flujo de trabajo del grupo de investigación incluyendo: Pfam (Seemann, 2014), Resfam (Gibsonet al., 2015) y CARD (McArthur et al., 2013). El 52% fueron genes relacionados a mecanismos enzimáticos, cefalosporinasas y carbapenemasas (8.4%, 3.7%, 4.7%, 6.3%, parabraOXA23, blaOXA64, blaOXA65, blaTEM-1, respectivamente) y enzimas modificadoras de aminoglucósidos (7.3%, 8.4%, 7,1% parastrA, strByaac(3)-IIa, respectivamente), un 48% de genes que codifican para mecanismos de resistencia no enzimáticos como bombas

de eflujo (9.7%, 9.2%, 10.3% y 2.6% para AdeIJK, AbeS, MexytetB respectivamente) y mutaciones que modifican el sitio blanco (8.9% para sul2). La tecnología de Secuenciación de Nueva Generación NGS ha mostrado una gran resolución en la identificación de genes relacionados a la resistencia a antibióticos y su concordancia con los perfiles de resistencia fenotípica.

Caracterización de la patogenicidad y rasgos biológicos de cepas de *Candida haemulonii* vs *Candida auris* en modelo de *Galleria mellonella*

Laura M Ramírez-Rojas, Claudia M. Parra

Unidad de investigación en Proteómica y Micosis Humanas, Facultad de Ciencias, Departamento de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C., Colombia.

Candida auris es una levadura emergente y multiresistente. Su primer reporte se hizo en el 2009 en Japón en tres pacientes (4). Su capacidad de infección se ha evidenciado que es a nivel de torrente sanguíneo, heridas expuestas y otitis con complicaciones. Se han encontrado casos en India(1), Sur África (2) y Kuwait(3) y recientemente en Colombia datos que no han sido publicados. Los casos se han descrito en pacientes que se encuentran en unidades de cuidado intensivos con catéter y que han estado hospitalizados por tiempos prolongados. *Candida auris* se encuentra filogenéticamente relacionada con *Candida haemulonii* (4), por lo que su identificación no ha sido la adecuada por métodos usuales como API.(5) *C. auris* sigue siendo una levadura de poca identificación, el 90% de los casos son mal identificados como *Candida haemulonii*; teniendo en cuenta esto, el uso de métodos como el MALDI-TOF son esenciales, dado que su diferenciación correcta aporta para dar un tratamiento adecuado y oportuno.(5). En el presente año se han reportado casos de *Candida auris*, por lo cual el CDC y otras entidades han emitido alertas, para que en centros de salud se tenga en cuenta esta levadura emergente.

Objetivo

Caracterización patogénica de cepas de *Candida haemulonii* vs *Candida auris* en modelo *Galleria mellonella*.

1. Evaluar la supervivencia del modelo *Galleria mellonella* infectadas con *Candida haemulonii* y *Candida auris*.
2. Identificar los rasgos biológicos de las cepas de *Candida haemulonii* vs *Candida auris* *in-vitro*.
3. Evaluar la capacidad fagocítica de los hemocitos de *Galleria mellonella* infectadas con *Candida haemulonii* y *Candida auris*

Métodos

El estudio se realizó con muestras obtenidas del Hospital de Valledupar, Hospital Bogotá (Unidad de investigación en Proteómica y Micosis Humanas) y Hospitales de Brasil (Laboratorio de Hongos Dimórficos Patogénicos). La identificación de las cepas se realizó por técnica MALDI-TOF. Para proceder a evaluación de la patogenicidad de la cepa se evaluó en el modelo *Galleria mellonella* realizando una inoculación con concentración de 5×10^7 /ml, haciendo un seguimiento durante 10 días. La caracterización y crecimiento de las cepas se

evalúo a diferentes temperaturas, pH y concentraciones de cloruro de sodio, observando así su comportamiento. Por otro lado se evalúo la capacidad de fagocitosis que tienen los hemocitos por microscopia de fluorescencia, tiñendo las cepas con blanco de carcofluor posteriormente inoculando el modelo animal.

Resultados

En este estudio se pudo identificar que las larvas inoculadas con *Candida auris* tienen menor supervivencia que las inoculadas con *Candida haemulonii*. La supervivencia de las larvas inoculadas con *C. auris* es del 100% a los días de observación 2, 3, 6, 7 y 9. En *Candida haemulonii* son las Ch11-Ch3-Ch7, con un porcentaje de 80% al día 7, 70% al día 9 y 60% al día 8 respectivamente; las cepas con menor virulencia de *Candida haemulonii* son las Ch1 con 10% de virulencia al día 7, Ch2 con 50% de virulencia al día 7, Ch12 con 0% de virulencia y Ch10 con %0% de virulencia al día 8.

Conclusión

- Las cepas de *Candida auris* tienen una mayor virulencia que las cepas de *Candida haemulonii*, por lo tanto las larvas infectadas con *Candida auris* tienen menos supervivencia que las larvas infectadas con *Candida haemulonii*.

Búsqueda de regiones informativas en genomas virales.

J.L Moreno-Gallego¹, A.Reyes²

1. Programa de Maestría en Biología Computacional, Universidad de los Andes,
Bogotá, Colombia.

2. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

En el mundo de los viromas domina lo desconocido y para su caracterización no se conocen muchos esfuerzos diferentes a la comparación de secuencias contra bases de datos públicas. Mas aún, a la fecha no se conoce un proceso formal de cómo asignar secuencias metagenómicas en la clasificación viral actual propuesta por la Comisión Internacional de Taxonomía Viral. Este estudio muestra el proceso de construcción de los ViPhOGs (Grupos de Ortólogos de Virus y Fagos) y el uso de un algoritmo de aprendizaje tipo Random Forest para resolver el problema de clasificación taxonómica viral dada la presencia característica de ViPhOGs en un conjunto de virus de acuerdo a su afiliación taxonómica. Para esto todos los genomas de virus almacenados en las bases de datos públicas del NCBI fueron descargados, analizando un total de 13,999 genomas, 442,007 proteínas y estableciendo un conjunto de 31,150 ViPhOGs. La clasificación de virus a nivel de orden, familia y género fue resuelta satisfactoriamente (puntajes de clasificación correcta superiores al 97%) encontrando ViPhOGs que caracterizan los virus taxonómicamente y que pueden ser empleados como regiones firma para la asignación taxonómica de genomas provenientes de metagenomas virales.

Análisis de redes y su uso en el entendimiento de la ecología microbiana de la fermentación de Cacao

Pacheco-Montealegre M. E^{1,2}, Reyes A², Caro-Quintero A¹.

1. Corporación colombiana de investigación agropecuaria (Corpoica). Km 14 Vía Mosquera, Colombia.
2. Laboratorio de Biología Computacional y Ecología Microbiana BCEM, Universidad de los Andes

En la producción de chocolate fino y de aroma influye la genética del cultivo, en un 50%, así como las metodologías de postcosecha, el 50% restante. La fermentación del Cacao es la fase de la postcosecha en el que múltiples microorganismos interactúan degradando el material vegetal; la importancia de este proceso radica en los cambios físicos y bioquímicos que producen importantes compuestos bioquímicos responsables por la calidad del grano. El entendimiento de la sucesión microbiana en la fermentación del grano es importante para optimizar la producción de cacao, dado que las interacciones entre microorganismos son fundamentales para generar un grano de la mejor calidad. Sin embargo, la mayoría de estudios reportan diversidad y abundancia, y poca información relacionada a la interacción entre microorganismos. El análisis de redes (AR) es un método bioinformático que evalúa patrones de interacción de los organismos presentes en los ambientes/muestras. Nuestro objetivo en este estudio es utilizar el AR para evaluar durante todo el proceso de fermentación las relaciones e interacciones entre los organismos con parámetros bioquímicos para identificar organismos clave. La aproximación metodológica incluye la secuenciación por MiSeq de marcadores moleculares, la detección y cuantificación de UTOs, la extracción de matrices de abundancia, diversidad y co-existencia y el análisis de redes de co-ocurrencia. Entre los resultados esperados se prevé encontrar UTOs del tipo generalista y del tipo especialista, que se encuentran en sitios específicos de muestreo. Posteriormente se establece la asignación taxonómica de las UTOs más relevantes en el análisis de redes.

Efecto de la renovación de praderas sobre las poblaciones bacterianas asociadas a la rizósfera de *Pennisetum clandestinum*

Avellaneda-Franco L, Benavidez-Cruz J.C.1; Bonilla-Buitrago R.R1 & Caro-Quintero, Al.

Corporación colombiana de investigación agropecuaria (Corpoica). Km 14 Vía Mosquera, Colombia. (+57 1) 4227300.

La degradación de las praderas afecta la productividad bovina. Como alternativa para recuperar dichas praderas Corpoica realiza un proceso de renovación de praderas, en el cual, por medio de la labranza vertical, la aplicación de enmiendas y fertilizantes y la intersiembra de especies forrajeras se ha logrado incrementar: la producción de forraje, el valor nutricional de la pradera, la carga animal, la productividad láctea y la calidad composicional de la misma. Lo anterior, se ha relacionado con la mejora de las condiciones físico-químicas del suelo, sin considerar el efecto de este proceso sobre las comunidades microbianas presentes en la rizósfera de las especies forrajeras, lo cual es un factor importante pues muchos de estos microorganismos son capaces de modular la respuesta de la planta para promover su crecimiento y/o protegerla de estreses bióticos y abióticos. Este trabajo evaluó el efecto de la renovación de praderas sobre las poblaciones bacterianas asociadas a la rizósfera de *Pennisetum clandestinum*, una gramínea predominante en los sistemas de explotación lechera del trópico alto. Para esto, se realizó la renovación de una pradera de 1ha en Saboya, Boyacá, recolectando muestras de suelo rizosférico asociado a *P. clandestinum* antes, a los 0 y 30 días después del proceso de renovación. Como control se realizó el muestreo en los mismos tiempos en una pradera que no fue renovada. El ADN fue extraído desde las muestras empleando el kit PowerSoil® DNA Isolation - MO BIO, posteriormente se amplificó y se secuenció la región V4 del gen 16S por medio de la plataforma de Illumina.

Producción de la enzima humana N-acetilgalactosamina-6-sulfato sulfatasa recombinante (GALNS) en la levadura *Pichia pastoris*

Alexander Rodríguez-López^{1,2}, Carlos J. Alméciga-Díaz^{1*}, Jhonnathan Sánchez¹, Jefferson Moreno¹, Laura Beltran¹, Dennis Díaz¹, Andrea Pardo¹, Aura María Ramírez¹, Angela J. Espejo-Mojica¹, Luisa Pimentel¹, Luis A. Barrera³

1 Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

2 Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

3 Clínica de Errores Innatos del Metabolismo. Hospital Universitario San Ignacio. Bogotá, Colombia.

* Correspondencia: Carlos Javier Alméciga-Díaz, Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Kra 7 No. 43-82 Edificio 53, Laboratorio 305A. Bogotá, Colombia. Tel: +57 1 320 8320 Ext 4125; Fax: +57 1 320 8320 Ext 4099; E-mail: cjalmeciga@javeriana.edu.co

La mucopolisacaridosis IV A (MPS IV A, Morquio A) es una enfermedad lisosomal producida por mutaciones en el gen que codifica para la enzima N-acetilgalactosamina-6-sulfato sulfatasa (GALNS). Recientemente ha sido aprobada una Terapia de Reemplazo Enzimático para el tratamiento de esta enfermedad, usando una proteína recombinante producida en células CHO. Previamente nuestro grupo ha reportado la producción de la enzima GALNS recombinante en *Escherichia coli* mostrando propiedades de estabilidad similares a la enzima recombinante producida en células de mamífero. Aunque la enzima se produjo en forma activa, esta no fue internalizada por células en cultivo. En este estudio presentamos la producción de la enzima humana GALNS (hrGALNS) en forma recombinante haciendo uso de la levadura metilotrófica *Pichia pastoris* GS115. Se observó que la remoción del péptido señal nativo y la co-expresión con la enzima humana generadora de formil-glicina (SUMF1), la cual actúa como activadora de sulfatasas, favoreció el aumento de actividad GALNS específica hasta en 4.5 veces. La enzima hrGALNS mostró una alta estabilidad a 4°C, mientras que se vio marcadamente reducida a 37 y 45°C. Adicionalmente, se observó que la proteína hrGALNS fue captada por las células HEK293 y por fibroblastos humanos en forma dosis-dependiente a través de un proceso potencialmente mediado por endocitosis, sin necesidad de modificaciones adicionales en la enzima o en las células. Estos resultados muestran el potencial la levadura *P. pastoris* como sistema de producción de la enzima GALNS recombinante en el desarrollo de una terapia de reemplazo enzimático para la enfermedad de Morquio A.

Evaluación del potencial antagonista de Bacterias ácido lácticas (BAL) sobre el crecimiento *in vitro* del fitopatógeno *F. oxysporum* que afecta el cultivo de uchuva (*Physalis peruviana* L)

Ovalle J, C; Barbosa J, D; Herrera R, F; Escobar S; Jiménez H, R

Corporación colombiana de investigación agropecuaria (Corpoica). Km 14 Vía Mosquera, Colombia.

Fusarium oxysporum se ha convertido en una amenaza que causa severas pérdidas económicas para el cultivo de uchuva. La alta incidencia de esta enfermedad en zonas productoras puede afectar hasta el 100% de las plantas, y su control ha llevado al uso indiscriminado de fungicidas de síntesis química. En este estudio se determinó el potencial antagonista de las BAL sobre el crecimiento *in vitro* de *F. oxysporum* como alternativa biológica para el control de este fitopatógeno y capacidad para tolerar pH variables representativos del suelo de zonas productoras (4,5; 5,5; 6,5). Las BAL se aislaron a partir de sustratos lignocelulósicos conservados en medio MRS a 37°C por 24 horas en condiciones microaerofílicas. Para determinar el antagonismo, se utilizó la técnica Spot-test. Los aislados fueron fenotípicamente caracterizados por Tinción de Gram, catalasa y perfil bioquímico con Kit API CHL50 y molecularmente mediante la secuencia del gen 16S ARNr. En total se obtuvieron 54 cepas, todas fueron Gram-positivas y catalasa negativa, de las cuales únicamente 20 aislados mostraron actividad antagónica contra el fitopatógeno; sin embargo 3 de estos aislados presentaron una mayor capacidad inhibitoria con relación a las otras. Según su perfil bioquímico y molecular, la mayoría de las BAL fueron identificadas dentro de los géneros *Pediococcus* y *Lactobacillus*. En conclusión, las BAL aisladas de los sustratos lignocelulósicos conservados tienen el potencial para controlar el crecimiento de *F. oxysporum* en suelos con rangos de pH entre 4,5 y 6,5; siendo el más favorable 5,5.

Aislamiento e identificación de bacterias halófilas con potencial bioactivo aisladas de las Salinas de Zipaquirá, Colombia

Garzón Rubiano V. G¹, Suarez Moreno Z. R², Duque Beltrán C³, Acosta-González A¹, Tello Camacho E.¹

1 Grupo de Investigación en Bioprospección (GIBP), Universidad de La Sabana, Campus Puente del Común, Km 7, Autopista Norte de Bogotá, Chía, Colombia.

2 División de Investigación y Desarrollo, Empresa Colombiana de Productos Veterinarios VECOL S.A. Bogotá

3 Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Colombia es uno de los países con mayor biodiversidad en el mundo, reconocido por su amplia variedad de especies vegetales y animales, situación que permite intuir un perfil megadiverso en las poblaciones de microorganismos, el cual se ha evidenciado en un sin número de estudios funcionales dirigidos a la identificación de bacterias. Entre las distintas adaptaciones de los procariotas se encuentran, los microorganismos halófilos, que se destacan por vivir en altas concentraciones de sal en lugares inhóspitos como las salinas (terrestres y marinas), y que, a su vez, han demostrado poseer un gran potencial biotecnológico, encontrándose involucrados en la producción de enzimas, polímeros y solutos compatibles de gran uso en distintas industrias como la farmacéutica, la alimentaria, la cosmética, la petrolera, entre otras (Oren 2002).

Por lo anterior, el objetivo de este estudio busca contribuir a los estudios de biodiversidad bacteriana en ambientes extremos, mediante el aislamiento e identificación de las bacterias halófilas provenientes de la mina de sal de Zipaquirá, Colombia (5°01'08.2"N, 74°00'39.49"W). Para ello, los sitios de recolección se escogieron de acuerdo a la disponibilidad de agua presente en los socavones, las muestras fueron inoculadas en medios nutritivos a diferentes concentraciones de NaCl 1%-30% (w/v), incubadas a 25-37 °C (óptimo 30°C), con diferentes rangos de pH (óptimo pH 7) y bajo condiciones aerobias y anaerobias. A continuación se realizaron análisis comparativos basados en secuenciación del gen 16S ARNr, mediante la extracción de DNA y su posterior amplificación. Así mismo, se incluyeron estudios morfológicos, bioquímicos, perfil de resistencia a antibióticos y evaluación de distintas actividades biológicas.

De los estudios anteriores se aislaron 41 cepas, siendo 13 posibles nuevas especies, ya que presentaron un bajo porcentaje de similitud (<98,7) (Yarza, 2014), dentro de los géneros aislados se encuentran, *Chromohalobacter*, *Oceanobacillus*, *Halomonas*, *Paracoccus*, *Kocuria* y *Staphylococcus*; con un amplio perfil bioquímico y producción de enzimas hidrolíticas, además fue posible determinar que *C. canadensis* (3S32) es capaz de producir biosurfactantes mientras que *H. almeriensis* (434) tiene actividad antibiótica e inhibidora de los sistemas de comunicación quorum sensing, lo anterior permite concluir

que la mina de sal de Zipaquirá, es una reserva de diversidad bacteriana con un gran potencial bioactivo de gran uso en diferentes industrias.

Análisis de genes que contribuyen a las funciones benéficas de rizobacterias (*Bacillus amyloliquefaciens* y *Pseudomonas fluorescens*) en plantas de banano Williams

**Gámez R¹, Montes M¹, Ramírez S², Cardinale M³, Ramírez L⁴,
Rodríguez F^{2*}**

1 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA CARIBIA, Zona Bananera, Magdalena, Colombia.

2 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICATIBAITATA, Mosquera, Cundinamarca, Colombia.

3 Instituto de Microbiología Aplicada, Justus-Liebig-Universidad de Giessen, Giessen, Alemania.

4 Centro Nacional de Información Biotecnológica, NCBI, Bethesda, Maryland, Estados Unidos.

Ocho rizobacterias promotoras de crecimiento fueron evaluadas en Banano Williams en invernadero núcleo. Dos de las cepas *Bacillus amyloliquefaciens* y *Pseudomonas fluorescens*, reportaron los mejores resultados en el bioensayo. El objetivo fue evaluar el perfil PGPR (plant-growth-promoting rhizobacteria) y secuenciar los genomas de las dos rizobacterias. La secuenciación del ADN genómico se preparó con Illumina usando bibliotecas de Agilent SureSelect QXT. La secuenciación del genoma se realizó con Illumina Hi ScanSQ,

Adicionalmente se determinó la ubicación y abundancia de estas rizobacterias en las raíces de banano. La técnica FISH se realizó a partir de raíces de plantas de banana 24 horas después la inoculación con *Bacillus* y *Pseudomonas*. Las raíces inoculadas con *Pseudomonas* y las raíces no inoculadas fueron fijadas con Formaldehído 4% + PBS 1X frío por 6 horas, lavadas tres veces con PBS 1X frío a -20°C. Para *Bacillus* fueron fijadas directamente con Etanol 96%-PBS 1X frío a -20°C.

El genoma de *B. amyloliquefaciens* BS006 reveló 4,128 genes y 3,998 secuencias de codificación (CDS), 6 rARN y 56 pseudogenes. En el caso de *Pseudomonas fluorescens* la anotación reveló 5,543 genes, 5,474 genes de codificación (CDSs), 4 rRNAs y 61 pseudogenes. En los genomas se identificaron genes PGPR.

Ambas bacterias inoculadas fueron detectadas en pelos radicales. En *Bacillus* se detectó en colonias simples. En *Pseudomonas* se detectó la mayoría en colonias simples o dobles, con una abundancia inferior a la de *Bacillus*. Ninguna señal fue detectada en las raíces no inoculadas y los controles negativos, hibridizados con las sondas NONEUB.

Susceptibilidad a los antimicrobianos de bacterias asociadas al Material Particulado PM2.5 del aire capturado en el Valle de Aburrá, Antioquía

Grajales González, D. A.¹⁻³, Nanclares Castañeda, D. A.¹⁻³, Montoya Campuzano, O. I.², Zapata Sánchez, C. E.³, Moreno Herrera, C. X¹

1. Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, Grupo de investigación Microbiodiversidad y Bioprospección
2. Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, Grupo de Investigación Biotecnología Microbiana
3. Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, Grupo de Investigación Redaire-Unal

El estudio de los microorganismos presentes en las partículas del aire, denominados bioaerosoles, incluyen principalmente hongos y bacterias vivas o muertas y virus que se han relacionado con problemas de salud. El material particulado PM2.5 es un contaminante atmosférico de alto riesgo debido que por su tamaño menor a 2.5 μm de diámetro puede ingresar a los alveolos pulmonares causando enfermedades e infecciones de carácter respiratorio. En Colombia, hay pocas investigaciones al respecto. El presente estudio buscó caracterizar bacterias asociadas a material particulado PM2.5 en el aire del Valle de Aburrá con capacidad de resistir el efecto a antibacterianos. Se realizó un aislamiento y caracterización de bacterias captadas en filtros de aire PM2.5 mediante técnicas de microbiología convencional y una identificación por técnicas moleculares y se evaluó el efecto de algunos bactericidas comerciales sobre los aislados con reportes de interés clínico, además de su actividad hemolítica producida en agar sangre. Los análisis de afiliación filogenética dieron como resultado el aislamiento de *Bacillus methylophilus*, *Paenibacillus alvei*, *Exigobacterium* sp. y *Bacillus cereus*. Los antibióticos evaluados fueron Amoxicilina, Ampicilina, Cloranfenicol, Gentamicina, Rifampicina, Tetraciclina y Clindamicina, dando como respuesta la resistencia de todos los microorganismos a la amoxicilina y la ampicilina y en particular, la resistencia del *Paenibacillus alvei* a siete de los ocho antibacterianos analizados. Los resultados obtenidos complementan la información para los planes de la Red de Monitoreo de Calidad de Aire del Valle de Aburrá.

Detección de bacterias productoras de compuestos volátiles asociadas a flores de fresa (*fragaria x ananassa*) como posibles atrayentes de abejas polinizadoras (*Apis mellifera*)

Juan Camilo Navarro Herrera

Ingeniero Agrónomo - Universidad Nacional de Colombia

Con el presente trabajo se busca establecer la presencia de microorganismos cultivables asociados a las flores de fresa y su potencial actividad como atrayentes de abejas (*Apis mellifera*) que participan en la polinización del cultivo. Lo anterior para la obtención de posible información preliminar que permita tratar de entender (según revisión bibliográfica adicional del tema), las interacciones entre plantas, microorganismos e insectos; lo cual mediante estudios complementarios efectuados a futuro, permitan generar información para sugerir posibles alternativas de manejo agronómico que logren incrementar el número de poblaciones de abejas polinizadoras asociadas al cultivo de fresa, a partir del uso de compuestos volátiles emitidos por los microorganismos.

Objetivo General:

Detectar aislamientos bacterianos como potenciales productores de compuestos volátiles atrayentes de abejas polinizadoras (*A. mellifera*) asociados a la flor de la fresa.

Objetivos específicos:

- Obtener morfotipos de bacterias cultivables asociadas a la flora del cultivo de fresa con posible actividad atrayente de *A. mellifera*.
- Determinar el grado de atracción de *A. mellifera* para los diferentes aislamientos bacterianos encontrados.

Conclusiones:

En este estudio se descubrió de manera preliminar la importancia que tienen los microorganismos asociados a las flores de la fresa, en la atracción de insectos polinizadores (*A. mellifera*) por medio de compuestos volátiles.

Se espera desarrollar más estudios asociados, que permitan abarcar más incógnitas con respecto al comportamiento del polinizador en presencia de estos microorganismos y la influencia del aprendizaje previo en la obtención de alimento y otras recompensas en abejas.

Se detectó que las levaduras son las principales responsables en la atracción de insectos polinizadores y que su adaptación a condiciones de altas concentraciones de azúcares las hacen idóneas para poblar de manera eficiente nichos en flores y néctar.

Se observó otros insectos tales como algunos dípteros y algunos artrópodos depredadores, asociados a algunos tratamientos.

Determinación genotípica de la resistencia a claritromicina en cepas de *Helicobacter pylori* provenientes de antro y cuerpo de pacientes colombianos sintomáticos

B. V. Arévalo¹, C. Jaramillo¹, B. Mendoza², D.F. Rojas¹, J.F. Vera-Chamoro², P. Rodríguez³, J. Álvarez³, M. C. Zuluaga², M.P. Delgado¹

1 Laboratorio de Diagnóstico Molecular y Bioinformática, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Carrera 1 # 18A-10, Bogotá, Colombia

2 Departamento de Gastroenterología, Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

3 Departamento de Patología, Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

Helicobacter pylori es una bacteria que ha sido asociada al desarrollo de diferentes patologías gástricas, incluyendo cáncer. La efectividad del tratamiento de erradicación contra esta bacteria ha disminuido drásticamente con el aumento de cepas de *H. pylori* resistentes a claritromicina, las cuales han adquirido mutaciones puntuales en el genADNr23S. El éxito de la terapia también puede verse afectado por la coexistencia de cepas sensibles y resistentes al mismo antibiótico en un mismo paciente. Este estado, llamado heteroresistencia, evidencia la necesidad del estudio de biopsias de diferentes locaciones estomacales. Con base en lo anterior, el presente estudio evaluó la prevalencia de cepas de *H. pylori* resistentes a claritromicina a partir de aislamientos provenientes de biopsias de antro y cuerpo en pacientes colombianos sintomáticos.

Se utilizaron cultivos que corresponden al banco de cepas del Laboratorio de Diagnóstico Molecular y Bioinformática de la Universidad de los Andes. Los cultivos fueron realizados a partir de biopsias gástricas de pacientes (n=235) de la Fundación Santa Fe de Bogotá, Colombia en Agar-GC suplementado con colesterol y vitaminas. En total, 100 aislamientos identificados morfológicamente como *H. pylori* fueron obtenidos a partir de biopsias de cuerpo y antro de 50 pacientes adultos voluntarios. Cada muestra fue sometida a extracción de ADN, amplificación por PCR de un fragmento del genADNr23S y electroforesis. Los productos de PCR fueron amplificados, purificados, secuenciados y comparados con una cepa de *H. pylori* susceptible a claritromicina (GenBank U27270).

Se encontró una prevalencia total de cepas *H. pylori* resistentes a claritromicina del 32%. En 14 pacientes se encontraron cepas resistentes en ambas locaciones estomacales (11 con la mutación A2143G y 3 con la mutación A2142G). En 2 pacientes se encontró un estado de heteroresistencia. Un paciente tenía una cepa resistente en antro (mutación A2142G) y una cepa susceptible en cuerpo mientras que el otro paciente presentó una cepa susceptible en antro y una cepa resistente resistente en cuerpo (mutación A2143G). Los 34 pacientes restantes presentaban cepas con un genotipo descrito como susceptible al antibiótico en los dos sitios del estómago.

En conclusión, la presencia de heteroresistencia hace necesario que los estudios de susceptibilidad sean realizados con biopsias de por lo menos dos sitios diferentes del estómago. Así mismo, la prevalencia de resistencia encontrada sugiere un cambio en el régimen de erradicación de *H. pylori* en nuestra población y poblaciones con contextos similares, de acuerdo con la IV Conferencia Consenso de Maastricht/Florenca.

Microbiota de trips (Thysanoptera: Thripidae) procedentes de cultivos comerciales de aguacate (*Persea americana* Mill.) del Oriente antioqueño

Cano Calle D.¹, Restrepo-Quiroz T.^{3,5}, Montoya-Porras L. M.², Moreno Herrera C. X.³, Mound L. A.⁴, Arango Isaza R. E.⁵.

1. Estudiante de Doctorado en Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. UNALMED-CIB y MICROBIOP.
2. Estudiante de Maestría en Ciencias Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. MICROBIOP.
3. Grupo de Microbiodiversidad y Bioprospección (MICROBIOP) Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, escuela de Biociencias. Medellín-Colombia
4. Australian National Insect Collection CSIRO. Canberra-Australia.
5. Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB. Unidad de Biotecnología Vegetal. Facultad de Ciencias, escuela de Biociencias. Medellín-Colombia.

El cultivo de aguacate en Colombia es considerado como una apuesta exportadora del país, los problemas fitosanitarios asociados a insectos plaga como los trips, afectan su competitividad. El conocimiento de las interacciones simbióticas entre insectos y su microbiota es clave para idear un programa de control eficiente. Debido a la poca información disponible en Colombia sobre este insecto, se realizó la identificación de especies de trips asociados al aguacate, por métodos moleculares utilizando la citocromo oxidasa I (COI) cotejados con la taxonomía tradicional y las bacterias asociadas se investigaron mediante métodos de microbiología convencional y moleculares por la amplificación de la región inter-ribosomal 16S- 23S (ITS) e identificadas por el análisis del gen ARNr 16S. En el estudio se identificaron cuatro géneros de trips: *Frankliniella*, *Tenothrips*, *Scirtothrips* y *Thrips* y los resultados microbiológicos fueron congruentes con lo reportado en el GenBank, lo cual permitió identificar bacterias aerobias pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Pantoea* y *Enterobacteriaceae*. Estos resultados indican la presencia de especies de trips y de especies de bacterias asociadas, no reportadas previamente en cultivos de aguacate en Colombia.

Aislamiento y caracterización de bacterias diazotróficas de cultivos de caña panelera en dos regiones productoras de Colombia

Uribe, D., Velandia, K., Camelo, C., Sánchez, F.

Universidad Nacional de Colombia

En Colombia, el cultivo de caña de azúcar para producción de panela tiene una gran importancia socioeconómica, principalmente en las mayores zonas productoras del país: Cundinamarca y la Hoya del Río Suarez (en Santander y Boyacá). Dependiendo del grado de tecnificación en la zona de producción, la aplicación de nitrógeno por hectárea varía de 0 a 150Kg/ha, práctica poco eficiente dado el precio elevado y la pérdida por lixiviación. Diversos estudios han mostrado que Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (BFN) en caña puede proporcionar hasta el 60% del nitrógeno requerido por la planta, lo que convierte este tipo de microorganismos en una alternativa de fertilización para este cultivo. El objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar cepas de BFN de cultivos de caña panelera con diferente grado de tecnificación, para ser usadas como biofertilizantes. Se aislaron cepas rizosféricas y endófitas (raíz y tallo) de plantas de caña de dos zonas productoras. La selección de BFN se realizó en medios libres de Nitrógeno, obteniendo 1227 aislados, de los cuales 321 resultaron positivos para actividad nitrogenasa. Los 60 aislados de BFN con mayor actividad, se evaluaron en términos de la producción de compuestos indólicos y solubilización de fosfato, actividades asociadas a la promoción de crecimiento vegetal (PCV). En total, el 70% de los aislados mostraron actividad de solubilización y un 15% produjo AIA. Puede concluirse que las plantas de caña conforman un ambiente propicio para la colonización de BFN, algunas con actividad PCV *in vitro*, que al ser nativas, están adaptadas a las variedades de caña y a las condiciones ambientales de las regiones de cultivo, resultado que aporta nuevas posibilidades de manejo de la caña panelera en el país.

β -N-acetilhexosaminidasas lisosomales humanas recombinantes en *Pichia pastoris* GS115: expresión, caracterización y evaluación *in vitro*

Espejo-Mojica, A.J¹; Rodríguez, A^{1,2}, Mosquera, A¹; Díaz, D¹; Beltrán, L¹; Ramírez, A¹; Díaz, S¹; Pimentel, N¹; Alméciga-Díaz, C.J^{1,*}; Barrera, L.A^{1,3,*}.

1 Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

2 Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

3 Clínica de Errores Innatos del Metabolismo. Hospital Universitario San Ignacio. Bogotá, Colombia.

* Corresponsal:

Carlos Javier Alméciga-Díaz, Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Kra 7 No. 43-82 Edificio 53, Laboratorio 305A. Bogotá, Colombia. Tel: +57 1 320 8320 Ext 4125; Fax: +57 1 320 8320 Ext 4099; E-mail: cjalmeciga@javeriana.edu.co

Luis Alejandro Barrera A, Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Kra 7 No. 43-82 Edificio 53, Laboratorio 303A. Bogotá, Colombia. Tel: +57 1 320 8320 Ext 4086; Fax: +57 1 320 8320 Ext 4099; Clínica de Errores Innatos del Metabolismo. Hospital Universitario San Ignacio. Bogotá, Colombia. Kra 7 No. 40-62. Bogotá, Colombia. Tel: +57 1 594 6161. E-mail: abarrera@javeriana.edu.co

Las proteínas recombinantes utilizadas como herramienta terapéutica en el tratamiento de enfermedades lisosomales mediante Terapia de Reemplazo Enzimático (TRE) han sido producidas generalmente en células de mamífero. Actualmente, los microorganismos están siendo evaluados como sistemas de expresión para producir enzimas recombinantes útiles para TRE. Las enfermedades de Tay Sachs y Sandhoff son causadas por la deficiencia de β -hexosaminidasas lisosomales humanas (Hex-A, Hex-B y Hex-S), no cuentan con terapia aprobada y la TRE es una alternativa para su tratamiento. Estas son isoenzimas diméricas constituidas por subunidades α y/o β expresadas por genes distintos. En este estudio se produjeron las tres isoenzimas lisosomales de forma recombinante en la levadura metilotrófica *Pichia pastoris* GS115. Los genes sin el péptido señal nativo fueron optimizados y subclonados en el plásmido pPIC9K con la señal de secreción α -Factor. A 1,65 L las actividades específicas más altas fueron 12624 U/mg, 10343 U/mg, y 14606 U/mg para rhHex-A, rhHex-B y rhHex-S respectivamente, valores de 25 - 50 veces más altos que los obtenidos en leucocitos de individuos normales. Estas enzimas recombinantes mostraron estabilidad a diferentes condiciones de temperatura y pH, y fueron capturadas por líneas celulares HEK293 y fibroblastos normales en cultivo sin requerir tratamientos adicionales. Se observó su direccionamiento al lisosoma mediante microscopía confocal, y se demostró la reducción de lípidos en un

cultivo de células neuronales. Los resultados de este trabajo mostraron el potencial tanto de *P. pastoris* GS115 para la producción de proteínas diméricas recombinantes como el potencial de las hexosaminidasas lisosomales recombinantes en TRE.

El microbioma cloacal en un ave silvestre: el rol de la reproducción y el sexo

Escallón C., Moore I.T., Belden L.K.

Department of Biological Sciences, Virginia Tech, Blacksburg, VA, USA

La testosterona es una de las hormonas que regula varios aspectos de la reproducción de los machos. Los beneficios de la testosterona ha sido ampliamente reportados, pero se sabe muy poco sobre los costos de mantener la testosterona elevada. La gran variación en los niveles de testosterona entre machos de una misma población sugiere que esta hormona representa un costo. Las enfermedades de transmisión sexual pueden ser uno de esos costos. En las aves, las bacterias cloacales son una comunidad compleja que incluye bacterias sexualmente transmitidas. Durante la estación reproductiva, los niveles de testosterona suben y hay un incremento en la actividad sexual. Nosotros hipotetizamos que las comunidades bacterianas en la cloaca serían más diversas durante la estación reproductiva que en la no reproductiva y que cada macho acumularía bacterias en cada temporada reproductiva. Muestreamos las comunidades bacterianas en la cloaca del Copetón (*Zonotrichia capensis*) por medio de secuenciación en Illumina. Encontramos que la comunidad bacteriana se volvía más diversa durante la temporada reproductiva, incrementando los niveles de riqueza de OTUs (operational taxonomic units) y diversidad filogenética, y luego disminuían su diversidad cuando los machos pasaban al estado no reproductivo. Los individuos muestreados a lo largo de varias temporadas reproductivas no acumularon más bacterias en su cloaca. Los machos con testosterona alta durante la estación reproductiva tuvieron un microbioma cloacal más diverso. Este estudio demostró que el microbioma cloacal en las aves es dinámico y esboza los vínculos entre la fisiología reproductiva, el comportamiento y las bacterias transmitidas sexualmente.

Evaluación del potencial de cutinasas, aisladas a partir de hongos filamentosos presentes en residuos agroindustriales

Rueda H, Jiménez C, Prieto E.

Universidad de la Sabana

Las cutinasas pertenecen al grupo de enzimas estererasas, que son capaces de catalizar la hidrólisis de los enlaces éster. Cutinasa cataliza la hidrólisis de la cutina, un biopolíester insoluble que es el componente estructural de las cutículas de las plantas, formado por muchos ácidos grasos. Algunos estudios han mostrado que microorganismos como hongos filamentosos producen cutinasas que son capaces de hidrolizar hidrocarburos alifáticos y aromáticos, para que estos los consuman como única fuente de carbono, lo cual puede ser aprovechado en procesos biotecnológicos para biodegradar moléculas contaminantes como el poli(etilentereftalato) PET. Por lo tanto el presente estudio, utilizó tres procedimientos para la pre-selección de cepas de hongos filamentosos con alto potencial cutinasa, de un banco de 33 cepas comprendidas en nueve géneros. El primer método se trató de un medio mineral, que contenía aceite de linaza, un buen inductor de la enzima, como la única fuente de carbono en presencia de rojo fenol como indicador, el segundo triacetina agar en presencia de rodamina B cuya respuesta es la formación de un complejo que produce fluorescencia y el tercero fue un ensayo cuantitativo donde se midió actividad cutinasa con p-nitrofenilbutirato. Los resultados obtenidos demostraron que *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor* y *Cladosporum* son los géneros más predominantes para la generación de cutinasas, de los cuales fueron identificadas 5 cutinasas de peso molecular entre 20-25kDa.

Composición de la microbiota intestinal de un vector primario de malaria en Colombia

P Bascuñán¹, SA Piedrahita¹, PA. Urrea¹, Y Galeano-Castañeda¹, D Serre², M M Correa¹.

1 Grupo de Microbiología Molecular. Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia, Medellín. Colombia.

2 Genomic Medicine Institute. Lerner Research Institute, Cleveland, USA.

En las últimas décadas se ha reportado un incremento importante en la resistencia de los parásitos Plasmodium a los fármacos antimaláricos y de los mosquitos Anopheles a los insecticidas. Estudios recientes han demostrado que algunas bacterias del intestino de mosquitos pueden interferir en su fisiología y en el ciclo de vida del parásito, sugiriendo que estas bacterias constituyen una alternativa como agentes de biocontrol de vectores de malaria. Actualmente, la mayoría de estudios en microbiota de mosquitos se ha realizado en vectores de África y Asia, pero ninguno en anofelinos de Colombia. Por ello, este estudio pretende elucidar la composición bacteriana del intestino del vector primario de malaria en Colombia An. nuneztovari. Los especímenes se colectaron en dos regiones endémicas de malaria. Se analizó la composición bacteriana del intestino de mosquitos hembras por métodos dependientes de cultivo. La caracterización micro y macroscópica de las colonias permitió reconocer 17 morfotipos en Istmina y 11 en El Bagre. Los resultados preliminares muestran diferencias en la diversidad y riqueza bacteriana entre las dos regiones y según el tipo de alimentación del mosquito (con o sin sangre). Los aislados serán identificados por secuenciación del gen 16S. Los resultados serán complementados con el análisis de metadatos generados por secuenciación masiva Illumina Mi-seq. Este trabajo, además de aportar información sustancial sobre la microbiota de un vector primario, permitirá generar un banco de cepas bacterianas para la búsqueda de candidatos con potencial para el biocontrol de vectores.

Aislamiento de una cepa de *Bacteroides fragilllis* para diferenciar el origen de la contaminación fecal en el río Bogotá

Sánchez-Alfonso Andrea C¹, Venegas Camilo¹, Díez Hugo¹, Jofre Juan², Blanch Anicet², Campos Claudia¹.

1. Departamento de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 No. 43-82, Bogotá, Colombia. E-mail: asanchez-a@javeriana.edu.co Departamento de Microbiología, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

La contaminación fecal aporta al agua microorganismos patógenos relacionados con enfermedades de origen hídrico. La detección de patógenos se dificulta debido a su alto costo, tiempo requerido y dificultad en su análisis por lo que se evalúan indicadores de contaminación fecal. Sin embargo, este tipo de indicadores no diferencian si la fuente de contaminación es de origen humano o animal, ya que hacen parte del tracto digestivo de ambos, lo que dificulta relacionar su presencia con un tipo de contaminación fecal puntual. En los últimos años, se ha trabajado en la selección de marcadores que permitan diferenciar el origen de la contaminación, dentro de los géneros evaluados se encuentra *Bacteroides* y el filo *Bacteroidetes* por ser uno de los grupos predominantes en las heces humanas. Así mismo, algunas cepas de *Bacteroides* son capaces de detectar bacteriófagos sólo en las heces de una determinada especie, por ejemplo de humanos o del ganado porcino o bovino. Sin embargo, en las cepas hospedadoras de bacteriófagos de *Bacteroides* se ha detectado cierta especificidad geográfica y rangos estrechos de recuperación de fagos de origen humano o animal, por lo cual es necesario aislar cepas que permitan discriminar la fuente de la contaminación en nuestras condiciones particulares. El objetivo de este trabajo es aislar una cepa hospedadora para bacteriófagos de *Bacteroides* que permita diferenciar la contaminación por ganado porcino, que pueda ser utilizada en la cuenca del río Bogotá ya que es uno de los principales receptores de contaminación en el país. Para el aislamiento se realizaron muestreos en plantas de beneficio de ganado porcino en los cuales se tomó el contenido intestinal de porcinos y se siguió la metodología descrita por Payan et al. (2005), logrando aislar 5 cepas. Se probó la especificidad de estas mediante la infección con bacteriófagos extraídos de contenido intestinal de bovinos y humanos. Las cepas aisladas se identificaron mediante PCR 16S cuyo producto fue secuenciado, encontrándose que los aislamientos corresponden en el siguiente orden a *Bacteroides fragilllis* S14 en un 99% de identidad, *Bacteroides fragilllis* 1202 en 93%, *Bacteroides fragilllis* S14 en 98%, *Bacteroides fragilllis* GB-307 en 93% y *Bacteroides fragilllis* 98-3X en 97%. Con los resultados obtenidos se aporta a la selección de los marcadores que permitan discriminar el origen de la contaminación fecal en el río Bogotá y así poder realizar seguimiento

y control de la contaminación, aspecto fundamental para la recuperación y conservación de este río.

Detección de *Helicobacter pylori* en aguas crudas y potables en tres plantas de potabilización

Fidson-Juarismy Vesga¹, Lina María Ledesma-Gaitan², Eliana Rodríguez³, Claudia Campos⁴ y Alba Alicia Trespalacios⁵.

1. Estudiante de Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.
2. Estudiante de Pregrado en Microbiología, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.
3. Joven Investigador, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana
4. Profesor Titular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana
5. Directora de posgrados y Profesor Titular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana

Helicobacter pylori es una bacteria patógena, capaz de colonizar la mucosa gástrica humana produciendo una de las infecciones más frecuentes en la población mundial con una prevalencia del 50% a nivel global y 77 - 80% en Colombia. Dadas las variaciones morfológicas y de viabilidad que presenta la bacteria; es un reto demostrar su presencia en el agua y más aún su viabilidad y capacidad infectante. Diversas estrategias metodológicas se han utilizado para demostrar su presencia y/o viabilidad en el agua; una de ellas es el cultivo en medios selectivos; de igual forma se han usado técnicas de inmunofluorescencia, y de detección de ácidos nucleicos como: hibridación fluorescente *in situ* (FISH), PCR y qPCR. En Colombia la prevalencia de la infección en humanos es alta y no existen estudios previos realizados en aguas crudas y de consumo, por tanto es pertinente conocer si *H. pylori* está presente y viable en aguas crudas y potables. Para ello en este estudio se propone determinar la presencia y viabilidad de *H. pylori* en aguas crudas y potables en tres plantas de potabilización, utilizando métodos fenotípicos y genotípicos, complementados con análisis morfológicos de la bacteria en las muestras estudiadas y finalmente determinar la relación que existe entre los indicadores de contaminación fecal (Coliformes totales, *E. coli* y esporas de *Clostridium* sulfito reductor) y la presencia de *H. pylori* en aguas.

Se analizaron 156 muestras de agua cruda y potable de tres plantas de tratamiento de agua potable (PTAP), a través del método de cultivo, verificados por amplificación por PCR y confirmados mediante análisis bioinformático del producto de secuenciación; encontrando que en el agua cruda, el 23.1% de las muestras de las PTAP 1 y 2 fueron positivas para la presencia de *H. pylori* y en la PTAP 3 el 38,5%. En cuanto al agua potable en la PTAP 1 el 30,8% fueron positivas y en las PTAP 2 y 3 el 42,3% y 46,2% respectivamente. En los análisis por PCR se encontró en el agua cruda la PTAP 1 un 33,3% fueron positivas

y en las PTAP 2 y 3 el 37,5% y 58,3% respectivamente. En cuanto al agua potable en la PTAP 1 el 70,8% fueron positivas y en las PTAP 2 y 3 el 62,5% y 50% respectivamente. No se encontró relación entre la presencia de los indicadores de contaminación fecal y la de *H. pylori* en el agua.

Insecticidal activity from Cyanobacteria from microbial mats

Laura Milena Becerra Real

Estudiante Maestría, Estudio y aprovechamiento de productos naturales marinos y frutas de Colombia, mbecerrar@unal.edu.co, Universidad Nacional de Colombia Bogotá

Microbial mats-forming marine cyanobacteria have been associated with toxicity events in tropical areas; accordingly, they have been studied in recent years. Until now, more than 700 compounds have been isolated from environmental samples, and a few of them have been obtained from axenic cultures. However, none of these studies provides the chemical analysis of microbial mats culturable consortia; and this fact could explain the metabolic diversity between environmental samples compounds, and axenic cultures ones.

In order to contribute for the assessment of the ability of these formations to produce compounds with insecticidal activity that can replace synthetic insecticides, cultures of 19 consortia collected from microbial mats were consolidated under the framing of 108 permission (0255 resolution of March 12th of 2014. Autoridad Nacional de Licencias Ambientales, Contrato Marco de Acceso a Recurso Genético y sus Productos Derivados N° 108. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, Universidad Nacional de Colombia). Five of them (with the largest and the fastest growing) were chosen to lead out toxicity tests. Crude extracts from two of the samples (CB06 and CB16) exhibited lethal doses less than 100 µg/mL in bioactivity assays against Brine shrimp (*Artemia salina*), while extracts obtained from samples CB09, CB11 and CB16 showed to be active against acetylcholinesterase enzyme. Finally, HPLC-ELSD and NMR-1H analysis, suggest the presence of compounds of interest in CB09, CB11 and CB16 extracts. These compounds could be responsible for the observed bioactivity in the extracts.

Análisis bioinformático de metagenomas virales provenientes de diferentes biomas

Oscar Ortega-Recalde & Alejandro Reyes

Laboratorio de Biología Computacional y Ecología Microbiana (BCEM), Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

Dada su gran abundancia y diversidad, los virus constituyen entidades de gran importancia en la biosfera terrestre. A pesar del interés creciente en el estudio de estos organismos una gran parte de sus funciones y el papel que cumplen en diferentes biomas es desconocida. El uso de nuevas técnicas de secuenciación y los avances en biología molecular y computacional ha revolucionado en gran parte dicho estudio. El presente trabajo hace uso de los datos públicos con el fin de analizar potenciales firmas proteicas en metagenomas virales provenientes de agua dulce, agua de mar, microbialitos, suelo e intestino humano. Tras la obtención de los datos se realizó un análisis de la calidad, curación, ensamblaje, y anotación de proteínas y dominios. Los dominios, regiones interdominios y proteínas sin dominios conocidos permitieron construir clusters de grupos de ortólogos (COGs) los cuales fueron analizados por Random Forest para evaluar la capacidad de dichos grupos de clasificar un ambiente dado. Para todos los biomas analizados el 74.8% de las proteínas virales predichas fue desconocida, siendo el porcentaje más alto de proteínas desconocidas las encontradas en intestino humano (83.3%). El análisis por Random Forest permitió identificar que existen 93 clusters de mayor importancia de un total de 24,502, logrando un porcentaje de clasificación correcta de 93.75%. Nuestros resultados sugieren que existen firmas específicas a nivel de COGs, característicos de cada uno de los ambientes, los cuales podrían ser blancos prioritarios para estudios más profundos que identifiquen su función e importancia en la dinámica de los ecosistemas.