

MEMORIAS

BOGOTÁ MICROBIAL MEETING- Virtual



**Pontificia Universidad Javeriana – 27-28 de
noviembre de 2020**

Con el apoyo de



MEMORIAS

BOGOTÁ MICROBIAL MEETING



Memorias
Bogotá Microbial Meeting –2020

Publicación anual
Sexta Edición
Bogotá, Colombia
27-28 de noviembre de 2020
ISSN 2539-2999 en línea- seriado

Editores

Alejandro Acosta González. Profesor Asociado
Universidad de La Sabana; Embajador joven
"ISME Society".

Gina López Ramírez. Profesora Asistente.
Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

Alejandro Reyes. Profesor Asistente Universidad
de los Andes. Bogotá.

Santiago Hernández. Estudiante de Doctorado.
Universidad de los Andes. Bogotá.

Vanessa Otero Jiménez-Estudiante doctorado.
Universidad Nacional de Colombia. Bogotá

Carolina Díaz. Profesora cátedra Universidad de
la Sabana. Investigadora contratista-SINCHI -
Bogotá

Alejandro Caro. Profesor Asistente. Universidad
Nacional de Colombia. Bogotá

Claudia Marcela Parra. Profesora Asociada.
Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

Sandra Baena. Profesora Asociada. Pontificia
Universidad Javeriana. Bogotá

Diego Jiménez. Profesor. Universidad de los
Andes. Bogotá.

Gina Paola del Carmen Rodríguez. Investigadora
Posdoctoral. Universidad de la Sabana. Bogotá

Andrea Borbón. Estudiante doctorado. Instituto
Max Planck



TABLA DE CONTENIDO

PRESENTACIÓN ORAL BOGOTÁ MICROBIAL MEETING 2020	3
SESIÓN A	4
DINÁMICA DEL MICROBIOMA BACTERIANO DEL QUESO PAIPA DURANTE EL PROCESO DE MADURACIÓN	5
CARACTERIZACIÓN DEL PAR INHIBIDOR/EFACTOR XAC0573/XAC0574 ASOCIADO AL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO IV DE <i>Xanthomonas citri</i>	6
SELECCIÓN DE UNA DIETA DE ALIMENTACIÓN DE LARVAS DE <i>Helicoverpa zea</i> PARA LA PRODUCCIÓN <i>in vivo</i> DEL NUCLEOPOLIEDROVIRUS HearNPV015	8
SESIÓN B.....	9
SUSTENTABILIDAD DE LA PTAR EL SALITRE INCORPORANDO FOTOBIOREACTORES EVALUADA CON EMERGÍA EN MODELOS DINÁMICOS.	10
SUSTAINABILITY OF EL SALITRE WWTP INCORPORATING PHOTOBIOREACTORS EVALUATED WITH EMERGY IN DYNAMIC MODELS.....	10
TRANSFORMACIÓN ANAERÓBICA DE PENTAERITRITOL TETRANITRATO (PETN) POR CULTIVOS DE ENRIQUECIMIENTO	11
DESEMPEÑO DE FORMULACIONES MICELARES DE ANFOTERICINA B BASADAS EN COPOLÍMEROS DE POLI(ETILENGLICOL) Y POLI (E-CAPROLACTONA) CONJUGADAS CON RETINOL FRENTE A <i>Candida</i> spp....	12
CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA Y FUNCIONAL DE MICROBIOMAS INVOLUCRADOS EN LA BIORREMEDIACIÓN DE DRENAJES ÁCIDOS DE MINAS, COMO UN RECURSO PARA EL DISEÑO DE ARREGLOS GENÉTICOS SINTÉTICOS PARA SER UTILIZADOS EN ESTRATEGIAS DE BIOAUMENTACIÓN GENÉTICA.	15
SESIÓN C.....	16
ESPECIES MULTIDROGO RESISTENTES DE CANDIDA SON SUSCEPTIBLES AL PÉPTIDO SINTÉTICO DERIVADO DE LFCINB: RWQWRWQWR	17
ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA COMBINACIÓN DE 50MM DE HIERRO Y 500 MM COBRE MODULAN LA PATOGENICIDAD, AUMENTA LA EXPRESIÓN DE LA CÁPSULA Y MELANINA E INDUCEN CAMBIOS PROTEÓMICOS EN DOS AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubii</i>	19
FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN TRATAMIENTO TÓPICO ANTIBACTERIANO BASADO EN NANOBIOCONJUGADOS DE MAGNÉTITA Y BUFORINA II	21
EL NITRATO DERIVADO DEL TEJIDO INFLAMADO ALTERA EL POTENCIAL METABÓLICO DE UN MICROORGANISMO DE LA CAVIDAD ORAL Y PERMITE SU ESTABLECIMIENTO EN EL INTESTINO	24
PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS LL-37 Y ATRA-1 COMO POTENCIALES ALTERNATIVOS FRENTE A LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN <i>Staphylococcus aureus</i>	25
SESIÓN D	26

MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE OF THE CARIBBEAN BIOERODING MARINE SPONGE CLIONA VARIANS BY SEQUENCING OF THE 16S RRNA GENE	27
GEOGRAPHIC SOIL ENVIRONMENTS INFLUENCE LARVAL GUT MICROBIAL COMMUNITIES IN THE INVASIVE JAPANESE BEETLE <i>Popillia japonica</i> Newman (Coleoptera: Scarabaeidae).....	29
DILUCIÓN A LA ESTIMULACIÓN / EXTINCIÓN: UNA ESTRATEGIA “TOP-DOWN” PARA EL DESARROLLO DE UN CONSORCIO MICROBIANO LIGNOCELULOLÍTICO MÍNIMO, EFICAZ Y VERSÁTIL	30
SESGOS DE K-MEROS COMO SEÑALES DE PREDICCIÓN DE INTERACCIÓN FAGO-HOSPEDERO	32
NO TODO LO QUE SOLIDIFICA ES AGAR: BUSQUEDA DE SUSTITUTOS DEL AGAR BACTERIOLÓGICO COMO ESTRATEGIA ALTERNATIVA DE CULTIVO DE MICROORGANISMOS	34
EVALUACIÓN DE UN CONSORCIO MICROBIANO (RIZOBACTERIAS) CON POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE “CARICA CUNDINAMARQUENSIS J.LINDEN” BAJO INVERNADERO CON APLICACIÓN EN RESTAURACIÓN ECOLÓGICA.	35

**PRESENTACIÓN ORAL
BOGOTÁ MICROBIAL
MEETING 2020**

SESIÓN A

DINÁMICA DEL MICROBIOMA BACTERIANO DEL QUESO PAIPA DURANTE EL PROCESO DE MADURACIÓN

Jose Castellanos-Rozo

Universidad de Boyacá

Introducción. El queso Paipa es el único queso tradicional semimadurado elaborado con leche cruda de vaca en Colombia. Sin embargo, se desconoce su composición bacteriana, las variaciones que pueden ocurrir en este proceso de maduración. Que microorganismos benéficos y potencialmente patógenos predominan. El objetivo del presente trabajo consistió en determinar la dinámica de la composición microbiana del queso durante el proceso de maduración espontánea.

Materiales y métodos. Para ello se muestrearon dos lotes de queso Paipa de tres productores formales durante el proceso de maduración de 28 días. El ADN total de las muestras de queso se extrajo mediante el kit PowerFood™ (MoBio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, EE. UU.) El ADN fue cuantificado mediante el sistema QuantiFluor® ONE dsDNA (Promega, Madison, WI, USA) y se utilizó para obtener secuencias de genes rRNA 16S utilizando la tecnología MiSeq Illumina.

Resultados. Los resultados indicaron que *Firmicutes* fue el principal phylum encontrado en los quesos seguido de *Proteobacterias*, *Actinobacterias* y *Bacteroidetes*. *Lactococcus* fue el género principal, pero también se detectaron otras bacterias del ácido láctico (*Enterococcus*, *Leuconostoc* y *Streptococcus*). *Staphylococcus* también fue relevante en algunas muestras de queso. Las *Proteobacterias* más importantes fueron *Enterobacteriaceae*, *Aeromonadaceae* y *Moraxellaceae*. *Enterobacter* se detectó en todas las muestras de queso. *Serratia* y *Citrobacter* fueron detectados en algunas muestras. *Aeromonas* y *Acinetobacter* también fueron relevantes. Otros géneros menores detectados fueron *Marinomonas*, *Corynebacterium* y *Chryseobacterium*. El análisis de coordenadas principales sugirió que había diferencias dependientes del productor en la microbiota de los quesos Paipa.

Conclusión. Los resultados del presente estudio revelaron que la microbiota central de los quesos Paipa no sólo incluye bacterias del ácido láctico, sino también bacterias alterantes y bacterias catalogadas como patógenos en humanos, lo que sugiere la necesidad de una mejora o refuerzo en las regulaciones para la producción de queso Paipa tradicional. Las diferencias en la composición microbiana de los quesos encontrados sugieren que la microbiota residente y las diferentes prácticas de higiene contribuyen a la microbiota final de los quesos.

CARACTERIZACIÓN DEL PAR INHIBIDOR/EFECTOR XAC0573/XAC0574 ASOCIADO AL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO IV DE *Xanthomonas citri*

Bueno, N.F.¹; Matsuyama, B.Y.¹; Lacerda, C.D.¹; Inague, A.¹; Miyamoto, S.¹; Cuccovia, I.M.¹ y Farah S.C.¹

¹ Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

El sistema de secreción tipo IV (T4SS) de *Xanthomonas citri* transfiere a las células diana un grupo de proteínas conocidas como efectores (X-Tfes), en los cuales fueron identificados por análisis bioinformático diferentes dominios putativos con capacidad de hidrolizar diversos componentes celulares bacterianos. Simultáneamente a la síntesis de los efectores, *Xanthomonas citri* produce proteínas de inmunidad (X-Tfis) para cada efector, las cuales son proteínas modificadas en su dominio N-terminal por la adición de ácidos grasos para ser insertadas en la membrana externa mientras que su dominio C-terminal permanece disponible en el periplasma para interactuar con su efector correspondiente y así evitar posibles efectos perjudiciales dentro de la bacteria productora. Estos efectores por tanto tienen la capacidad de matar otras especies bacterianas, otorgando una ventaja para predominar en su nicho ecológico como lo son las superficies de las hojas y el suelo, para posteriormente colonizar la planta. Teniendo en cuenta lo anterior es necesario confirmar la actividad biológica identificada por análisis bioinformático para los efectores, así como la capacidad inhibitoria de las proteínas de inmunidad, para eso nosotros evaluamos por diferentes técnicas bioquímicas y biofísicas el potencial biológico del par X-Tfi/ X-Tfe XAC0573 y XAC0574, siendo que en ésta última fue identificado el dominio conservado lipasa tipo III y en su inhibidor el péptido señal propio de las lipoproteínas.

Las proteínas XAC0574 y XAC0573 fueron clonadas, expresadas y purificadas de *E. coli* para realizar los estudios enzimáticos y de interacción proteína-proteína. En los ensayos de actividad enzimática fueron utilizados los tres fosfolípidos mayoritarios de la membrana interna bacteriana, fosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina y cardiolipina, para evaluar la capacidad del efector de hidrolizarlos, así como determinar el tipo de fosfolipasa al cual pertenecía según los productos generados de la reacción enzimática. Los resultados obtenidos demostraron que XAC0574 presenta una mayor actividad de hidrólisis frente a la fosfatidiletanolamina y pertenece al grupo de las fosfolipasas A1. Adicionalmente, los estudios desarrollados para caracterizar la interacción entre las dos proteínas permitieron identificar la formación de un complejo proteico estable con una estequiometría de 1:1 entre XAC0573 y XAC0574 y una constante de disociación de 0,65nM. Una vez formado el complejo enzima-inhibidor, la interacción ocasiona la completa inhibición de la actividad enzimática de XAC0574. Por otro lado, los estudios estructurales se dirigieron a cristalizar XAC0573 marcada con selenio-metionina, para posteriormente ser difractada por rayos-X con una resolución de 2.3. y generar un modelo atómico que adopta una topología de un sándwich β compuesto por ocho hebras antiparalelas. Posteriormente el modelo fue usado para mapear los residuos conservados según la homología disponible en las bases de datos de estructuras proteicas para predecir interfaces que posiblemente están implicadas en la inhibición de XAC0574.

En conclusión, nosotros establecimos que el efector XAC0574 es una fosfolipasa A1 que presenta su mayor actividad frente al componente predominante de la membrana interna bacteriana, así como interactúa de forma estable con su inhibidor XAC0573, lo que ocasiona la pérdida total de la actividad enzimática de XAC0574, lo que nos permite describir una nueva clase de par fosfolipasa/inhibidor con actividad bactericida asociada con el sistema de secreción de tipo IV.

Palabras clave: *Xanthomonas citri*, Sistema de secreción tipo IV (T4SS), Efecto/inhibidor, fosfolipasa A1, membrana bacteriana.

Financiado por: CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) y FAPESP (Fundação de Amparo. Pesquisa do Estado de São Paulo).

SELECCIÓN DE UNA DIETA DE ALIMENTACIÓN DE LARVAS DE *Helicoverpa zea* PARA LA PRODUCCIÓN *in vivo* DEL NUCLEOPOLIEDROVIRUS HearNPV015

Jenny Carolina Ruiz Moreno^{1,2}, Stephanie Numa², Diego Rincon², Alejandro Acosta-González¹,
Juliana Andrea Gómez²

¹ Maestría en Diseño y Gestión de procesos Universidad de la Sabana, Campus Universitario del Puente del Común, km 7 Autopista Norte de Bogotá, Chía, Cundinamarca, Colombia.

² Centro de Investigación Tibaitatá, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Km. 14 vía Mosquera, Cundinamarca, Colombia

El complejo de larvas del género *Helicoverpa* spp., posee especies catalogadas como plagas agrícolas de importancia económica a nivel mundial, ya que causan pérdidas de hasta US\$ 5 billones anualmente. El uso de los virus entomopatógenos de la familia *Baculoviridae*, surge como una opción ambientalmente segura al uso de insecticidas químicos para el control de plagas de dicho complejo, al ser altamente específicos y virulentos. El grupo de control biológico de plagas agrícolas de Agrosavia recientemente aisló un nucleopoliedrovirus de *Helicoverpa armigera* (HearNPV015) con potencial biocontrolador de diferentes plagas de dicho complejo que afectan cultivos agrícolas en Colombia.

Teniendo en cuenta que los baculovirus son patógenos intracelulares obligados, y que en la actualidad el único método de multiplicación viral para la producción de bioinsecticidas es la infección de larvas del insecto (*in vivo*), un aspecto relevante para optimizar el proceso es la selección adecuada de la dieta de alimentación del insecto, para que tenga un efecto positivo en la producción de baculovirus a un bajo costo. Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia de la dieta de alimentación sobre la producción de partículas virales en *Helicoverpa zea* (insecto hospedero utilizado en la multiplicación viral del HearNPV015). Para esto se evaluaron cuatro dietas artificiales a base de garbanzo y germen de trigo (dieta 1), yuca, frijol y germen de trigo (dieta 2), frijol y germen de trigo (dieta 3) y germen de trigo (dieta 4). Se registró diariamente el peso ganado por individuo en cada tratamiento y se determinaron los instares larvales (ley de Brooks-Dyar), y la productividad del virus (Cuerpos de Inclusión/g de larva). Se observó que el número de instares larvales se ve afectado por la dieta de alimentación y que la velocidad de crecimiento de las larvas en la dieta 1 fue significativamente menor (16,39 días). Ninguna dieta ejerció algún efecto significativo en el peso máximo alcanzado por las larvas ($\approx 0,62$ g). En cuanto a la producción del virus, las dietas tuvieron un efecto en el peso final de las larvas infectadas y la productividad, siendo las dietas 1 y 2 significativamente mayores. La mortalidad no presentó diferencias significativas en los tratamientos evaluados (> 80%). Teniendo en cuenta estos resultados, se seleccionó la dieta 1 a base de germen de trigo y garbanzo, por presentar las mejores características tecnológicas para la producción del HearNPV015.

SESIÓN B

SUSTENTABILIDAD DE LA PTAR EL SALITRE INCORPORANDO FOTOBIOREACTORES EVALUADA CON EMERGÍA EN MODELOS DINÁMICOS.

SUSTAINABILITY OF EL SALITRE WWTP INCORPORATING PHOTOBIOREACTORS EVALUATED WITH EMERGY IN DYNAMIC MODELS.

Edson Amaya^{1*}, Julio Beltrán², Monika Echavarría.

¹Cindesus. Carrera 21 No 56-38, Bogotá, Colombia.

²Universidad Distrital. Carrera 5 Este # 15-82 / Calle 14 # 7-46 Este (Globo B) Piso 2, Bogotá, Colombia

*Autor de correspondencia: cindesus@cindesus.org

RESUMEN

Se propuso un modelo de simulación dinámica para explicar el proceso de remoción de materia orgánica expresada como emergía y determinar la sustentabilidad en la planta de tratamiento (PTAR) El Salitre fase 1- Bogotá D.C., Colombia, se modeló el funcionamiento normal de la PTAR incorporando los datos de Fotobiorreactores (FMAB) los cuales trabajaban con un consorcio de microalgas aisladas del humedal el Gualí, los FMAB fueron monitoreados tomando variables como: DBO5, Nitrógeno amoniacal, nitratos, fosfatos, pH, conductividad, Oxígeno disuelto y crecimiento microalgal en laboratorio durante un tiempo de 9 días. Los modelos incluyen los flujos de la planta y se basaron principalmente en la DBO5 y su remoción como variable determinante del mayor flujo de Emergía. Esta modelación se apoyó en ecuaciones diferenciales y utilizando el método Euler de integración con el programa computacional Vensim Ple. La metodología de análisis de sustentabilidad basado en el análisis de la emergía, se calculó a partir de los índices de: apropiación de la emergía (EYR), carga ambiental (ELR) y de sustentabilidad de la emergía (ESI). La primera simulación mostró como la planta presenta una baja sustentabilidad relacionada con la remoción de la materia orgánica, mostrando como esta variable incide en la evaluación de la emergía, en contraste, al incorporar los datos obtenidos de los FMAB el sistema es sustentable. El modelo, según el análisis de sensibilidad de Montecarlo mostro que una variación de los caudales entrantes genera un efecto en los índices de sustentabilidad y remoción de contaminantes; validando de esta forma el modelo y corroborando su aplicabilidad a este tipo de procesos. Esta herramienta permitirá una mejor toma de decisiones, permitiendo una formulación de políticas gubernamentales para mejorar los procesos de tratamiento y consigo el flujo de energía en las ciudades, repercutiendo a su vez en alcanzar los objetivos del desarrollo sostenible relacionados con: agua limpia y saneamiento, industria innovación e infraestructura, ciudades y comunidades sostenibles, producción y consumo responsable, acción por el clima y vida submarina.

PALABRAS CLAVE: Economía ecológica, Ingeniería ecológica, Metabolismo de las ciudades, Microalgas, aguas residuales.

TRANSFORMACIÓN ANAERÓBICA DE PENTAERITRITOL TETRANITRATO (PETN) POR CULTIVOS DE ENRIQUECIMIENTO

Jessica Lorena Manosalva Estepa,^{a*} Ziv Arbeli,^a

Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental, Bogotá, Colombia.

Resumen

El Pentaeritritol tetranitrato (PETN) es un compuesto perteneciente al grupo éster de nitrato empleado principalmente en el área farmacéutica, como medicamento para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, y como explosivo conformando junto con el TNT la pentolita, usada en campos como la industria militar, las obras civiles y la extracción minera.

Los residuos producidos como resultado del uso y la fabricación de PETN, resultan ser contaminantes de suelos y cuerpos de agua. Debido a su persistencia en el ambiente, PETN es clasificado como un compuesto xenobiótico. El establecimiento de cultivos de enriquecimiento a partir de muestras ambientales, permite a través de presión de selección, obtener los microorganismos esenciales, en el proceso de transformación en este caso de PETN. Estos cultivos posibilitan el estudio de la comunidad simplificada, permitiendo evaluar los requerimientos nutricionales, así como las condiciones requeridas para garantizar su función metabólica.

Este trabajo de investigación evaluó el efecto de diferentes fuentes de carbono y nitrógeno en la biotransformación anaeróbica de PETN empleando cultivos de enriquecimiento, obtenidos de suelos con antecedentes de exposición a PETN de la planta de explosivos Antonio Ricaurte de INDUMIL. Se realizaron pases periódicos en medio mineral suplementado con PETN (100 mg/L) bajo condiciones de anaerobiosis. Se evaluó la transformación en ensayos sin fuente de carbono, con extracto de levadura y con diferentes fuentes de carbono (Acetato, citrato, glucosa, glicerol y pentaeritritol) y nitrógeno (NaNO_3 , NH_4NO_3 , NH_4Cl).

El método de enriquecimiento selectivo permitió obtener un cultivo anaerobio biotransformador de PETN. Los ensayos realizados sin fuente de carbono no presentaron transformación, tampoco cuando se usó pentaeritritol como fuente de carbono, lo que sugiere que las bacterias anaerobias de estos cultivos de enriquecimiento no tienen la capacidad de usar el PETN como fuente de carbono. Sin embargo, cuando se usó acetato (250 mg/L) como fuente de carbono se evidenció transformación del 53.6%, lo que podría indicar que PETN puede ser usado como aceptor de electrones. Al usar citrato (250 mg/L) se observó transformación del 88,4% sin la adición de una fuente externa de nitrógeno, sugiriendo que PETN puede ser usado como fuente de nitrógeno por este cultivo. Sin embargo, la adición de una fuente externa de nitrógeno estimula la transformación de PETN por estos cultivos. Los ensayos con adición de extracto de levadura (100 mg/L) presentaron resultados favorables siendo estos en los que se evidenció mayor porcentaje de transformación. Este proceso permitió detectar pentaeritritol dinitrato y pentaeritritol mononitrato como subproductos de la transformación de PETN, soportando el uso de PETN como fuente de nitrógeno.

El establecimiento de un cultivo degradador permite ampliar el conocimiento que se tiene sobre la degradación de PETN. A partir de este cultivo se pueden aislar bacterias degradadoras, o realizar estudios metagenómicos que permitan identificar los microorganismos que componen esta comunidad e identificar la ruta metabólica empleada en el proceso.

DESEMPEÑO DE FORMULACIONES MICELARES DE ANFOTERICINA B BASADAS EN COPOLÍMEROS DE POLI(ETILENGLICOL) Y POLI (E-CAPROLACTONA) CONJUGADAS CON RETINOL FRENTE A *Candida spp*

Luis Fernando Quejada Sánchez ¹, Jean Carlos Villamil¹, Yeimy Johana Rodríguez Molina², León

Perez², Claudia Marcela Parra Giraldo¹

¹ Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá-Colombia

² Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia

Introducción y Planteamiento del problema

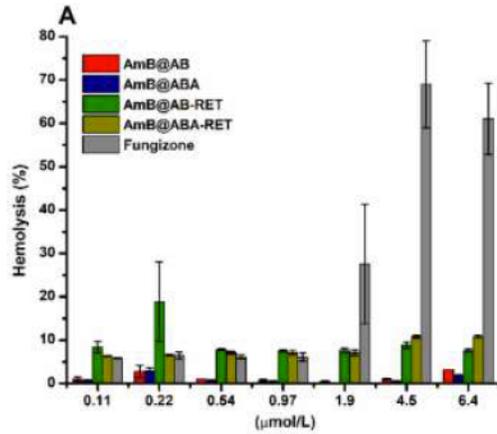
La Anfotericina B (AmB) es el antifúngico de más amplio espectro para el tratamiento de micosis invasivas causadas principalmente por *Candida spp*. Posee acción fungicida y actúa formando poros en la membrana de la levadura gracias a su alta afinidad al ergosterol, ocasionando daño irreversible en la integridad de la célula fúngica. No obstante, la AmB también puede interactuar con células humanas formando agregados, ocasionando nefrotoxicidad. En la actualidad, se disponen en el mercado de formulaciones liposomales de AmB más seguras. Sin embargo, en Latinoamérica no se cuentan con laboratorios que desarrollen estas formulaciones, haciendo que el tratamiento con estas sea de un costo bastante elevado, limitando así, su uso en la terapia antifúngica. Por tanto, el estudio en formulaciones nanoencapsuladas con PEG, policaprolactona (PCL) y terpenos como colesterol y retinol constituyen una alternativa, promisoría para el tratamiento de micosis.

Objetivos

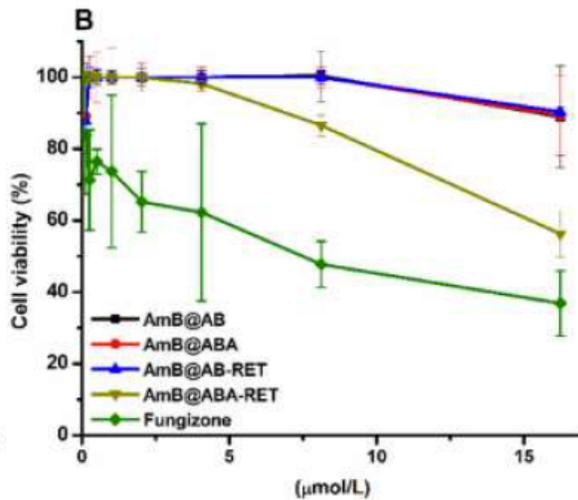
Evaluar la actividad antifúngica frente *Candida albicans* SC5314 y *Candida auris* 435 y *C. auris* 537 y la actividad hemolítica de las formulaciones de Anfotericina B nanoencapsulada en sustancias lipídicas como retinol, colesterol y otros fosfolípidos con el fin de obtener alternativas terapéuticas con igual actividad antifúngica y menor toxicidad a las presentaciones

Resultados

1. Actividad Hemolítica en glóbulos rojos



2. Ensayo de Citotoxicidad en fibroblastos L929



3. Concentración Mínima Inhibitoria

Yeast	Reference	CLSI			Formulations			
		FLC *	CAS *	Fungizone®	AmB@AB	AmB@ABA	AmB@AB-RET	AmB@ABA-RET
MIC (μg/mL)								
<i>C. albicans</i>	SC5314	1	0.06	0.46	<0.11	<0.11	<0.11	<0.11
<i>C. glabrata</i>	ATCC 2001	0.25	0.06	0.46	<0.11	<0.11	<0.11	<0.11
<i>C. krusei</i>	ATCC 6258	32	0.25	1.875	0.23	0.23	0.43	0.23
<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019	1	0.25	0.23	<0.11	<0.11	<0.11	<0.11
<i>C. auris</i>	435-PUJ-HUSI	8	0.25	0.93	0.23	0.23	0.46	0.23
<i>C. auris</i> *	537-PUJ-HUSI	128 **	<0.05	3.75	1.865	0.93	3.75	3.75
<i>C. parapsilosis</i>	75-PUJ-FVL	0.125	<0.05	0.11	<0.11	<0.11	0.11	<0.11

* FLC: Fluconazole* CAS: caspofungin. ** This MIC corresponds to a resistance isolate.

Conclusión y Perspectivas

Las formulaciones de AmB encapsulada mostraron una mayor actividad antifúngica frente a *C. albicans* SC5314, *C. auris* 435 y *C. auris* 537 comparado a los resultados obtenidos con Fungizone. Además, no se evidenció una actividad hemolítica relevante. Por tanto, constituyen una alternativa para el tratamiento potencial de las micosis invasivas causadas por *Candida* spp. Como perspectivas a corto plazo tendremos la evaluación de las formulaciones en modelo in vivo de invertebrado con *Galleria mellonella* con el fin de seleccionar las moléculas más promisorias y poder escalar hacia un Modelo murino y observación de cortes histopatológicos.

CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA Y FUNCIONAL DE MICROBIOMAS INVOLUCRADOS EN LA BIORREMEDIACIÓN DE DRENAJES ÁCIDOS DE MINAS, COMO UN RECURSO PARA EL DISEÑO DE ARREGLOS GENÉTICOS SINTÉTICOS PARA SER UTILIZADOS EN ESTRATEGIAS DE BIOAUMENTACIÓN GENÉTICA.

Marcela Villegas-Plazas^{1,2}, Janeth Sanabria¹, Howard Junca²

¹ Environmental Microbiology and Biotechnology Laboratory, Engineering School of Environmental & Natural Resources, Engineering Faculty, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

² RG Microbial Ecology: Metabolism, Genomics & Evolution, Div. Ecogenomics & Holobionts, Microbiomas Foundation, LT11A, 250008, Chia, Colombia.

El drenaje ácido de minas (DAM) es el principal residuo generado por la minería de carbón, una de las actividades económicas más importantes en Colombia y en la mayoría de los países en vía de desarrollo. Es un líquido de pH ácido (≈ 2.0) que se caracteriza por contener altas concentraciones de sulfato y metales pesados, y presenta efectos adversos para la salud humana y de los ecosistemas. Por consiguiente, mejorar las estrategias de biorremediación es una prioridad actual para las ciencias ambientales. Los reactores bioquímicos pasivos son una de las herramientas más utilizada para el tratamiento de DAM; consisten en una columna anaerobia contenida por una mezcla reactiva de alta carga orgánica y microbiana a través de la cual fluye el drenaje y es sometido a transformaciones químicas y biológicas. Nuestra investigación utilizó estos reactores como ecosistema de estudio para determinar a través de aproximaciones metagenómicas, cuáles fueron las funciones biológicas sobrerrepresentadas y co-seleccionadas en la comunidad microbiana durante los momentos de biorremediación más efectiva; esto con la idea de utilizarlas en una estrategia de bioaumentación genética. La degradación de la celulosa, la reducción anaerobia de sulfito y el sistema de transporte de sulfato fueron identificadas como las funciones biológicas de más alta frecuencia durante el tratamiento de DAM, convirtiéndolas en blancos adecuados para diseñar una propuesta de bioaumento genético. Con ese fin, secuencias derivadas de los metagenomas codificando para estos genes fueron utilizadas para la construcción de 3 módulos genéticos accesorio que fueron insertados en el plásmido conjugado promiscuo pMATING221, el cual sería utilizado para la movilización de los genes ambientales previstos en los microbiomas de los reactores. Las propiedades de transformación y conjugación de este plásmido fueron evaluadas utilizando cepas aisladas de suelos altamente contaminados con DAM, encontrando que además de su transformación en cepas bacterianas aeróbicas y anaeróbicas naturalmente competentes, este plásmido tiene propiedades de trans-gram-conjugación. A pesar de que los módulos accesorio representaron una alta carga fisiológica para las bacterias hospederas y hasta el momento las funciones deseadas no han logrado expresarse, esta investigación representa uno de los estudios más detallados a nivel taxonómico y funcional de microbiomas involucrados en la biorremediación de DAM, aportando elementos importantes para mejorar sus estrategias de biorremediación.

SESIÓN C

ESPECIES MULTIDROGO RESISTENTES DE CANDIDA SON SUSCEPTIBLES AL PÉPTIDO SINTÉTICO DERIVADO DE LFCINB: RWQWRWQWR

Yerly Vargas Casanova¹, Claudia Marcela Parra Giraldo¹, Zuly Jenny Rivera Monroy² y Javier Eduardo García Castañeda²

¹Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá-Colombia

²Universidad Nacional de Colombia, Bogotá-Colombia

INTRODUCCIÓN

La incidencia y prevalencia de Infecciones Fúngicas Invasivas (IFI) ha incrementado desde 1980, como consecuencia de la expansión de la población inmunocomprometida. Uno de los principales agentes casuales de las IFI, es *Candida* spp. En la última década, la resistencia antifúngica (RA) asociada a este género de levaduras ha aumentado, razón por la cual, es urgente desarrollar nuevos agentes antifúngicos para prevenir y tratar estas infecciones. Una fuente importante de agentes terapéuticos son los Péptidos Antimicrobianos (PAMs), los cuales, forman parte de la respuesta inmune innata y tienden a generar menor resistencia. Un PAM altamente estudiado es Lactoferricina Bovina (LfcinB), un péptido de 25 aminoácidos para el cual se ha reportado múltiples funciones biológicas, entre ellas actividad antifúngica.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la diferencia en la actividad antifúngica del péptido LfcinB (21–25) Pal: RWQWRWQWR contra cepas de referencia y aislados clínicos de *C. albicans*, *C. auris*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. krusei* ?

OBJETIVO

Evaluar la actividad antifúngica del péptido sintético LfcinB (21–25)Pal: RWQWRWQWR, contra cepas de referencia y aislados clínicos de *C. albicans*, *C. auris*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. krusei*.

METODOLOGIA

El péptido fue sintetizado usando Síntesis de Péptidos en Fase Sólida manual (SPPS-Fmoc/tBu), fue purificado por RP-SPE y caracterizado por RP-HPLC y MALDI-TOF MS. Para la determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) (guía CLSI) se usó el método de microdilución en caldo. Se realizaron curvas de tiempo – muerte según protocolo CLSI, con modificaciones y el efecto sinérgico del péptido con fluconazol o caspofungina, se determinó a través del ensayo de tablero de ajedrez.

RESULTADOS

LfcinB (21–25)Pal presentó actividad antifúngica contra: *C. albicans* 5314, *C. albicans* 256, *C. auris* 435, *C. auris* 537, *C. glabrata* 2001, *C. glabrata* 1875, *C. tropicalis* 1369, *C. tropicalis* 1018, *C. tropicalis* 883 y *C. krusei* 6258 con CMIs entre 34 y 135 μ M. Para las curvas de tiempo-muerte, todas las levaduras, excepto, *C. auris* 537, el péptido indujo ~ 99.99 % de muerte hasta las 72 horas, concentración dependiente, además, se observó una disminución en el crecimiento a través del tiempo en diferentes porcentajes,

dependiendo de la cepa. Finalmente, para *C. tropicalis* 883 y *C. krusei* 6258 (cepas resistentes a fluconazol), el péptido (25-50 µg/mL) presentó sinergismo con fluconazol, donde la CMI del fluconazol disminuyó entre 16 y 32 veces cuando fue combinado con el péptido palindrómico.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos indican que LfcinB (21–25)Pal presentó actividad fungistática y fungicida contra *Candida* spp. multidrogo resistente y efecto sinérgico con fluconazol, debido a esto, se considera que este péptido palindrómico puede ser un candidato para el desarrollo de tratamientos ya sea sólo o combinado con antifúngicos convencionales.

Estos hallazgos son de alta relevancia para el área de las ciencias de la salud y para la comunidad en general, debido a que en el momento el número de antifúngicos comerciales es limitado y ya se presentan casos de RA; por lo cual, se requieren inmediatamente nuevas y novedosas alternativas terapéuticas que mitiguen esta problemática. No obstante, próximamente se esperar poder profundizar en aspectos como: mecanismo de acción, estabilidad, toxicidad e incluso pasar a estudios in vivo.

ANÁLISIS DE LA RESPUESTA DE LA COMBINACIÓN DE 50MM DE HIERRO Y 500 MM COBRE MODULAN LA PATOGENICIDAD, AUMENTA LA EXPRESIÓN DE LA CÁPSULA Y MELANINA E INDUCEN CAMBIOS PROTEÓMICOS EN DOS AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*.

Norida Vélez¹, Monteoliva Lucía², Sánchez Adriana, García-Rodas Rocio³, Concha Gil², Escandón Patricia⁴, Castañeda Elizabeth⁴, Zaragoza Óscar³, Claudia-Marcela Parra-Giraldo^{1*}

¹ Unidad de Proteómica y Micosis Humanas, Grupo de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C. 110231, Colombia; velez.norida@javeriana.edu.co (N.V); vega.nelson@javeriana.edu.co (N.V.V);

² Departamento de Microbiología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid, Spain; ahinaram@ucm.es (A.A); luciamon@farm.ucm.es (L.M); conchagil@ucm.es (C.G).

³ Mycology Reference Laboratory National Centre for Microbiology, Instituto de Salud Carlos III Carretera Majadahonda-Pozuelo, Madrid, Spain; ozaragoza@isciii.es (O.Z)

⁴ Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud Bogotá/Colombia; pescandon@ins.gov.co(P.E); Elizabeth Castañeda (E.C)

En este estudio, evaluamos el efecto de hierro y cobre en la patogenicidad de aislamientos clínicos de *C. neoformans* var. *grubii*, utilizamos el modelo in-vivo de *G. mellonella*, observamos que la patogenicidad es afectada por concentraciones de 50 μM de hierro y 500 μM de cobre, sin embargo, al combinar estos dos minerales observamos que la patogenicidad aumento en el 90% de los aislamientos evaluados. Como han descrito varios autores el impacto que tiene estos minerales en la expresión de los principales factores de virulencia, la cápsula y melanina, evaluamos el efecto de las concentraciones antes mencionadas de hierro y cobre y la combinación en estos rasgos de virulencia en dos aislamientos clínicos que tienen genomas diferentes. Observamos que la combinación de los minerales aumento significativamente el tamaño capsular, produjo células tipo titan y acelero la producción de melanina.

Para obtener información sobre los mecanismos de expresión implicados en los rasgos de virulencia inducidos en la combinación de 50 μM hierro más 500 μM de cobre, realizamos un análisis proteómico citoplasmático en dos aislamientos clínicos. Nos preguntamos qué cambios proteómicos están relacionados con los cambios de cápsula y melanina. En la combinación de los minerales para los dos aislamientos encontramos términos relacionados con el complejo heterotramérico adaptador de membrana de clatrina, procesos relacionado a biosíntesis de melanina, ureasa, hidrolasa, actividad catalítica, respuesta al calor, concentraciones de sal y estrés osmótico. Estas proteínas se agruparon en rutas metabólicas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos (fructosa, manosa, bultanoato y ácido dibásico ramificado), aminoácidos (cisteína, metionina, valina, leucina, isoleucina, glutatión) nucleótidos (purina) y vías que están relacionadas con el tráfico de membrana y el transporte vesicular como la proteína AP-1, Och1 y Atm1. Identificamos 64 proteínas relacionadas con patogenicidad, biosíntesis de cápsula y melanina. En la combinación de hierro y cobre la proteína MLN2 fue exclusiva en la producción de melanina, GSK3 y CCR4 se relacionaron con patogenicidad. En contraste no observamos proteínas exclusivas en la biosíntesis de cápsula para en la combinación de los minerales.

Responder y adaptarse a una gran cantidad de estímulos ambientales son habilidades claves que necesita *C. neoformans* para sobrevivir a nichos biológicos diferentes. Es necesario continuar explorando la

dinámica de los minerales en la patogenicidad y virulencia en esta levadura, así como de involucrar en las investigaciones diversos estímulos e instimulando diferentes ambientes donde interactúa. Nuestros resultados también implican que existe un vínculo entre el precultivo en combinación de hierro y cobre con proteínas asociadas al tráfico vesicular. Las vesículas se han relacionado a la biosíntesis, remodelación de cápsula y melanina.

FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN TRATAMIENTO TÓPICO ANTIBACTERIANO BASADO EN NANOBIOCONJUGADOS DE MAGNÉTITA Y BUFORINA II

**Laura N. Muñoz¹, Jessica Pérez², Alejandra Suárez-Arnedo², Carolina Muñoz-Camargo², Juan C. Cruz²,
Andrés Fernando González Barrios¹**

¹ Grupo de Diseño de Productos y Procesos (GDPP), Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

² Grupo de Investigación en Nanobiomateriales, Ingeniería Celular y Bioimpresión (GINIB), Departamento de Ingeniería Biomédica, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

Este proyecto de investigación es realizado en colaboración de los departamentos de Ingeniería Química e Ingeniería Biomédica de la Universidad de los Andes y es financiado por el programa de salud de Colciencias.

El incremento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos de uso tópico como la mupirocina y el ácido fusídico [1], [2], y la falta de tratamientos de este tipo que sean efectivos para tratar los casos de infecciones cutáneas nosocomiales, representan un problema para la salud pública mundial considerando que tienen asociada una tasa de mortalidad superior al 50% [3]–[6]. De este modo, surge la necesidad de diseñar un tratamiento que pueda ser empleado efectivamente en infecciones cutáneas causadas por cepas resistentes a antibióticos como es el caso de *S. aureus* resistente a Meticilina. En este orden de ideas, hemos propuesto diseñar un nanobioconjugado empleando nanopartículas de magnetita y el péptido antimicrobiano Buforina II, el cual actuará como agente activo dentro de un tópico. El nanobioconjugado sintetizado por co-precipitación y posterior inmovilización del péptido en la superficie de las nanopartículas modificada con PEG, tiene un tamaño de partícula individual en estado seco de alrededor de 7.4 nm, sin embargo, en solución se observan agregados de cerca de 100 nm con una distribución relativamente uniforme. Además, se comprobó que el péptido se inmovilizó correctamente en la superficie de las nanopartículas de magnetita, según espectros de FTIR y que se alcanzó una eficiencia de 7.43% en este proceso. Por otro lado, se comprobó la actividad del nanobioconjugado contra *E. coli* y su internalización, además se observó la internalización del nanobioconjugado en diferentes líneas celulares humanas y se obtuvo un escape endosomal del $70 \pm 12\%$ en células THP-1 [7]. Adicionalmente, se verificó su biocompatibilidad considerando los estándares internacionales propuestos en las normas ISO 10993 [8]–[11].

Posteriormente se formuló un tópico el cual sirviera como medio para hacer la dispersión del nanobioconjugado. Para este fin se desarrolló una emulsión directa concentrada preparada mediante agitación constante y posterior homogeneización [12], [13], la cual permaneció estable por 95 días, en comparación con el tratamiento comercial Fucidin. Adicionalmente, el tamaño de gota se mantuvo alrededor de 1 μm , lo cual favoreció la estabilidad y la viscosidad del tópico. No obstante, con base a estos resultados se realizaron modificaciones en la formulación de la emulsión para incrementar la estabilidad y mejorar las propiedades micro (tamaño de gota) y macroscópicas del producto (reología), las cuales se conservaron al llevar la producción a escala banco, es decir, en un volumen de 3.5 L.

Hasta el momento podemos concluir que la producción de las nanopartículas y la inmovilización del péptido Buforina II en estas fue exitoso, además de conservar la actividad antimicrobiana del péptido y de ser biocompatible. Adicional a esto, se logró diseñar una emulsión directa, estable y escalable la cuál se puede emplear como medio tópico para tratar infecciones cutáneas. Finalmente, como parte del trabajo futuro, se realizarán ensayos de biocompatibilidad, tales como agregación plaquetaria, hemólisis y citotoxicidad, al sistema emulsión-nanobioconjugado, al igual que ensayos de actividad antibacteriana contra *S. aureus* de referencia y algunas cepas clínicas con resistencia a meticilina. Por último, el producto se probará en un modelo dermo-epidérmico equivalente de piel infectado con *S. aureus*, el cual está siendo desarrollado por el grupo de Nanobiomateriales, Ingeniería Celular y Bioimpresión del departamento de Ingeniería Biomédica.

Referencias

- [1] Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, “Ficha Técnica ácido Fusídico Isdin 20mg/g crema.” pp. 1–5, 2017.
- [2] S. Vanangamundi, “A medicinal Fusidic Acid Cream Made Using Sodium Fusidate and Incorporating a Biopolymer and a Process to Make It,” 2010.
- [3] D. I. Andersson, D. Hughes, and J. Z. Kubicek-Sutherland, “Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides,” *Drug Resist. Updat.*, vol. 26, pp. 43–57, 2016.
- [4] T. Frieden, “Antibiotic resistance threats in the United States,” *Centers Dis. Control Prev.*, p. 114, 2013.
- [5] M. Read, “High Levels of Antibiotic Resistance Genes Found in Major Midwest Watershed,” pp. 1–5, 2012.
- [6] A. A. Sanabria G, Araya S, “Situación actual de la susceptibilidad a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aislados en infecciones invasoras en niños,” *Rev. del Inst. Med. Trop.*, vol. 3, no. 1, pp. 29–34, 2008.
- [7] J. Perez, J. Cifuentes, M. Cuellar, A. Suarez-Arnedo, J. C. Cruz, and C. Muñoz-Camargo, “Cell-penetrating and antibacterial BUF-II nanobioconjugates: Enhanced potency via immobilization on polyetheramine-modified magnetite nanoparticles,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 14, pp. 8483–8497, 2019.
- [8] I. Standard, “Part 4: Selection of tests for interactions with blood, ISO 10992-4,” *Int. Stand. Organ. Biol. Eval. Med. devices*, 2002.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute, *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests ; Approved Standard — Eleventh Edition*, vol. 32, no. 1. 2012.
- [10] U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, “Use of International Standard ISO 10993-1, ‘Biological evaluation of medical devices - Part 1: Evaluation and testing within a risk management process.’” p. 68, 2016.
- [11] International Organization For Standardization, “INTERNATIONAL STANDARD ISO 10993-5.” p. 42, 2009.

- [12] C. Wibowo and K. M. Ng, "Product-oriented process synthesis and development: Creams and pastes," *AIChE J.*, vol. 47, no. 12, pp. 2746–2767, 2001.
- [13] F. Calvo, J. M. Gómez, L. Ricardez-Sandoval, and O. Alvarez, "Integrated design of emulsified cosmetic products: A review," *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 161, pp. 279–303, 2020.

EL NITRATO DERIVADO DEL TEJIDO INFLAMADO ALTERA EL POTENCIAL METABÓLICO DE UN MICROORGANISMO DE LA CAVIDAD ORAL Y PERMITE SU ESTABLECIMIENTO EN EL INTESTINO

Daniel F Rojas-Tapias

Associate Postdoc. Infectious Diseases and Microbiome Program. Broad Institute of MIT and Harvard.

La enfermedad del intestino inflamado (IBD, por sus siglas en inglés) es un término general que describe desordenes que involucran la inflamación crónica del intestino. Las representaciones más comunes de este grupo de patologías son la enfermedad de Chron y la colitis ulcerativa. La IBD es una enfermedad compleja que resulta de la interacción de factores ambientales y genéticos que conllevan a una respuesta inmune y a inflamación del intestino. Mientras la causa puntual de la enfermedad aún es incierta, se teoriza que la microbiota del intestino podría jugar un rol importante. La evidencia viene de la observación de que en personas tratadas con antibióticos existe una mayor propensión a la IBD, lo cual establece una firme conexión entre disbiosis y enfermedad. El sentido de la implicación, no obstante, es ambiguo: se desconoce si la disbiosis causa inflamación o si la inflamación causa disbiosis.

El ambiente del intestino presenta una amplia complejidad donde un gran número de especies microbianas viven e interactúan con el huésped y con la dieta, y por tanto discernir la contribución de estos a la IBD representa un reto enorme. Análisis computacionales de personas con la IBD y personas sanas muestra la asociación específica de ciertos grupos de microorganismos con la enfermedad y por tanto representan una oportunidad para investigar causalidad. En particular, una de estas especies que es enriquecida durante IBD es *Veillonella parvula*, una especie comensal de origen oral. El enriquecimiento de esta especie nos hizo preguntarnos acerca de las condiciones asociadas a inflamación que permiten a un organismo que reside en la cavidad oral colonizar el intestino inflamado.

Los resultados mostraron que la presencia de nitrato del huésped, el cual es generado durante inflamación, puede ser usado como aceptor de electrones por *Veillonella*. Este nitrato le permite a *Veillonella* crecer más rápido y usar una mayor diversidad de sustratos. En particular, la respiración de nitrato es acoplada con el uso de aminoácidos y péptidos como fuente de carbono y energía. Nosotros además notamos que el rol de la fuerza protón motriz generada por el uso de nitrato como aceptor terminal de electrones varía en función de la fuente de carbono usada. En presencia de lactato (i.e. fuente primaria de carbono) y nitrato, el ATP es formado mediante fosforilación a nivel de sustrato, mientras que, en presencia de fuentes alternativas de carbón y nitrato, el ATP es formado mediante fosforilación oxidativa. Esta estrategia explica por qué el uso de aminoácidos y péptidos requiere el acoplamiento con nitrato. Finalmente, mostramos en experimentos con ratones, que la actividad nitrato reductasa es crítica para la colonización del intestino inflamado. Estos resultados, por lo tanto, proveen evidencia para entender cómo una bacteria oral se hace capaz de invadir tejido inflamado en el intestino, y avanzan nuestra comprensión de la interacción entre nuestro intestino, el microbioma y la IBD.

PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS LL-37 Y ATRA-1 COMO POTENCIALES ALTERNATIVOS FRENTE A LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN *Staphylococcus aureus*.

Angie Lorena Fonseca Fernández¹, Heydys Martinez¹, Marcela Guevara-Suarez^{1,2,3}, Chad Leydi NA⁴, Aura Lucia Leal Castro⁵, Adriana Marcela Celis Ramírez¹

- ¹ Grupo Celular y Molecular de Microorganismos Patógenos (CeMoP), Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
- ² Laboratorio de Micología y Fitopatología, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
- ³ Applied genomics research group, Vicerrectoria de Investigación y Creación, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
- ⁴ Laboratorio de Biofísica, Departamento de Física, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
- ⁵ Grupo de investigación en enfermedades infecciosas, Facultad de medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Staphylococcus aureus es una bacteria que hace parte de la microbiota humana, sin embargo, puede generar enfermedades de alta gravedad. Este microorganismo es un problema de salud pública debido a la resistencia a antibióticos β -lactámicos, entre ellos la meticilina. El objetivo de este estudio fue caracterizar el perfil molecular y de sensibilidad *in vitro* a antibióticos y péptidos antimicrobianos LL-37 y ATRA-1, de un set de aislamientos clínicos de *S. aureus*. Para ello contábamos con un total de 50 aislamientos provenientes del Grupo para el Control de la Resistencia Bacteriana en Bogotá (GREBO) y del Laboratorio de Biofísica de la Universidad de los Andes, para estos se realizó identificación molecular mediante la amplificación de la región 16s rARN, y sensibilidad *in vitro* por difusión en agar y microdilución (CLSI) a antibióticos y péptidos antimicrobianos LL-37 y ATRA-1. Como resultados obtuvimos que la caracterización molecular confirmó la identidad de los aislamientos como *S. aureus*. EL 60 % fue resistente a oxacilina, 52% a cefoxitin, 16% a eritromicina, 6% a clindamicina, 2% a gentamicina y para ciprofloxacina y trimetoprima-sulfametoxazol no se presentaron aislamientos resistentes. Adicionalmente, identificamos concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) mayor a 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para el péptido LL-37, así mismo entre 128 y 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ empleando el péptido ATRA-1. En conclusión, basados en nuestros resultados, se hace relevante continuar con la vigilancia de la presencia de *S. aureus* resistente tanto a meticilina como otros antibióticos de uso clínico; así como ahondar en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas como los péptidos antimicrobianos, que contribuyan al control de la resistencia bacteriana.

Financiado por Colciencias: 120480763040

SESIÓN D

MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE OF THE CARIBBEAN BIOERODING MARINE SPONGE CLIONA VARIANS BY SEQUENCING OF THE 16S RRNA GENE

Jeysson Sánchez-Suárez¹, Luis Díaza², Howard Junca³, Erika Garcia-Bonilla³, Luisa Villamila*

¹Doctorate in Biosciences, School of Engineering, Universidad de La Sabana, Chía, Cundinamarca, Colombia

²Bioprospecting Research Group, School of Engineering, Universidad de La Sabana, Chía, Cundinamarca, Colombia

³RG Microbial Ecology: Metabolism, Genomics & Evolution, Div. Ecogenomics & Holobionts, Microbiomas Foundation, Chía, Cundinamarca, Colombia

Introduction

It is estimated that 3 billion persons depend on marine resources. Additionally, around 5% of the global GDP is associated with marine and coastal biodiversity. However, the oceans' health has been recently threatened by several issues such as global warming, overfishing, pollution, to name a few. For these reasons, among the 17 Sustainable Development Goals of the United Nations, the 14 one, "Life Below Water," attend to stimulate scientific research on marine resources to encourage the sustainable use of the marine biodiversity and improve the economic development in the developing countries. Notwithstanding, these goals' achievement relies on the available sound scientific data about the country's oceans. In this vein, coral reefs provide an exceptional opportunity based on their well-known biodiversity. Besides cnidarians, sponges are crucial members of coral reefs that play vital ecological niches for these ecosystems' health and development. These ecological niches are closely linked to the sponge's microbiome. Although Colombia has more sponges species than corals, their microbiomes remain uncharacterized, and therefore, in this study, we proposed to define the prokaryotic community structure of *Cliona varians*. An ecologically important boring sponge of the Colombian Caribbean sea.

Materials and Methods

Total DNA was extracted by duplicated (eight samples) from four *C. varians* specimens sampled on the Santa Marta Bahia. A 16S rRNA V4 region amplicon library was constructed by Illumina MiSeq platform sequencing employing universal 515F/806R pair primers. Bioinformatic analysis (including alpha and beta diversity metrics) was performed using QIIME pipeline v1.9.1, and the OUT table was obtained by alignment against the SILVA v132 reference database.

Results

A total of 7,143 OTUs were grouped from 364,879 raw sequences (after the quality filter). On the one hand, the samples showed comparable alpha diversity values (i.e., 1-D= 0.69 ± 0.03 ; 0.9 ± 0.02 ; 0.9 ± 0.03 ; 0.96 ± 0.02 ; $H' = 3.78 \pm 0.51$; 6.86 ± 0.35 ; 6.59 ± 0.41 ; 6.98 ± 0.4). On the other hand, the beta diversity measured by weighted unifracs analyses suggests a core microbiome community occurrence. Regarding prokaryotic community composition, at phylum-level, members of the Proteobacteria and Thaumarchaeota were the most abundant. Within Proteobacteria, Rhizobiales (class Alphaproteobacteria) were the most predominant (between 25.10% and 54.08%). In the case of archaea, class Nitrososphaeria was shown to be important participants by the *C. varians*' microbiome. Rhizobiales

and Nitrososphaeria prokaryotes have been reported as nitrogen cycle regulators. The former is involved in the nitrogen fixation and the latter is participating in ammonia oxidation.

Conclusion

C. varians sponge had 232 persistent core microbiome OTUs with a high predominance by members of Alphaproteobacteria and Thaumarchaeota. According to the most predominant OTUs (i.e., order Rhizobiales and family Nitrosopumilaceae), the nitrogen cycle seems to be a critical ecological niche by the microbiome of this boring sponge. On the other hand, considering the high sponge-associated microbial diversity described here places a *C. varians* as an outstanding opportunity for microbial ecology and

GEOGRAPHIC SOIL ENVIRONMENTS INFLUENCE LARVAL GUT MICROBIAL COMMUNITIES IN THE INVASIVE JAPANESE BEETLE *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae)

Helena Avila-Arias¹, Michael E. Scharf¹, Ronald F. Turco², and Douglas S. Richmond¹

¹Department of Entomology, Purdue University, West Lafayette, IN 47907, USA

²Department of Agronomy, Purdue University, West Lafayette, IN, 47907, USA

Abstract

Invasive scarab beetles, like the Japanese beetle *Popillia japonica* Newman (JB), spend most of their lives as larvae feeding in the soil matrix. Despite the potential role of gut microbial communities on the behavior, physiology, and nutritional ecology of these insects, relatively little is known about its composition or the role of environmental factors. With this study, we aimed to understand the role of soil biological and geochemical characteristics in shaping the gut microbial communities of JB larvae. We collected third instar JB larvae and their associated soil from seven locations across Indiana and Wisconsin, extracted metagenomic DNA, and amplified and sequenced the V4 region of the 16S ribosomal RNA. The physical and geochemical characteristics of the soil were also quantified. The influence of compartment (soil, midgut or hindgut) on prokaryotic α - and β -diversity varied with location, inferring that JB larval gut communities are shaped by environmental sourcing. Soil physical and geochemical characteristics were significant predictors of prokaryotic α -diversity. At the order level, core microbiomes from soil and midgut shared 17 taxa, while those of the midgut and hindgut shared 4. Core microbiomes of the soil and hindgut did not share any taxa exclusively, but Betaproteobacteriales was present in the core microbiome of all three compartments. Prokaryotic communities in the hindgut clustered separately from the other two compartments, which displayed greater interspersions in the ordination space. Our findings suggest that the microbial communities associated with each compartment appear to be a function of adaptation to the local soil environment.

DILUCIÓN A LA ESTIMULACIÓN / EXTINCIÓN: UNA ESTRATEGIA “TOP-DOWN” PARA EL DESARROLLO DE UN CONSORCIO MICROBIANO LIGNOCELULOLÍTICO MÍNIMO, EFICAZ Y VERSÁTIL

Laura Díaz-García ¹, Sixing Huang ², Cathrin Spröer ², Rocío Sierra-Ramírez ³, Boyke Bunk ², Jörg Overmann ^{2,4} and Diego Javier Jiménez ¹ #

¹Grupo de Investigación Microbiomas y Bioenergía, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Carrera 1 No 18A-12, Bogotá, Colombia.

²Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Inhoffenstraße 7B 38124, Braunschweig, Germany.

³Grupo de Diseño de Productos y Procesos. Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos, Universidad de los Andes, Carrera 1 No 18A-12, Bogotá, Colombia.

⁴Braunschweig University of Technology, Universitätsplatz 2 38106, Braunschweig, Germany.

Resumen

La ingeniería de comunidades complejas puede ser un camino exitoso para comprender la ecología de los sistemas microbianos y mejorar los procesos biotecnológicos. En esta investigación, desarrollamos una estrategia combinada para ensamblar un consorcio microbiano lignocelulolítico mínimo y efectivo (MELMC) utilizando una combinación secuencial de enfoques de dilución a la estimulación y dilución a la extinción. La construcción de la comunidad se realizó a partir de suelo forestal andino empleado como inóculo y luego, seleccionado mediante incubación en medio líquido con mezcla de residuos vegetales agrícolas como fuente de carbono (bagazo de caña de azúcar, rastrojo de maíz y cascarilla de arroz). Al finalizar la fase de dilución a estimulación, se enriquecen significativamente cerca de 50 taxones bacterianos, en su mayoría pertenecientes a las familias *Sphingobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* y *Paenibacillaceae*, fueron enriquecidos significativamente. Posteriormente, mediante el método de dilución hasta la extinción se demostró que solo 8 taxones bacterianos son necesarios para mantener el crecimiento microbiano y el consumo de biomasa vegetal. En el proceso de estabilización de este consorcio, las especies *Pseudomonas* sp. y *Paenibacillus* sp. fueron enriquecidas alcanzando una abundancia relativa mayor a 99% dentro del MELMC, lo que indica que estos son los microorganismos claves de la degradación. En el proceso de estabilización de este consorcio, las especies *Pseudomonas* sp. y *Paenibacillus* sp. fueron enriquecidas alcanzando una abundancia relativa mayor a 99% dentro del MELMC, lo que indica que estos son los microorganismos claves de la degradación. En los resultados, se presentan diferencias en la composición de las comunidades, entre las réplicas biológicas, indicando que la selección, el muestreo y/o los efectos de prioridad modulan la estructura del consorcio. Así mismo, se evidencia que el MELMC tiene la capacidad de degradar aproximadamente 13% del rastrojo de maíz, consumiendo principalmente su fracción (hemi) celulósica. A nivel enzimático, las pruebas con sustratos cromogénicos mostraron que el MELMC secreta una serie de endoenzimas capaces de degradar xilano, arabinoxilano, carboximetilcelulosa y paja de trigo. Adicionalmente, el perfil metagenómico inferido de la composición filogenética, de manera bioinformática, junto a un análisis de enzimas activas en carbohidratos de veinte genomas bacterianos, respalda el potencial del MELMC para deconstruir polisacáridos vegetales, lo que se atribuye principalmente a la presencia de *Paenibacillus* sp. La importancia de nuestro estudio radica principalmente en el desarrollo de una estrategia combinada de enriquecimiento “top-down” (es decir, de dilución a la estimulación acoplada a dilución a la extinción) para construir un consorcio microbiano lignocelulolítico mínimo y versátil. Se demostró que se requieren

principalmente dos especies bacterianas enriquecidas selectivamente (*Pseudomonas* sp. Y *Paenibacillus* sp.). Nuestros hallazgos pueden orientar el diseño de un consorcio bacteriano sintético que podría mejorar los procesos de sacarificación (es decir, la liberación de azúcares de residuos de plantas agrícolas) en biorrefinerías. Además, pueden ayudar a ampliar la comprensión ecológica de la degradación de la biomasa vegetal en sistemas bacterianos enriquecidos.

SESGOS DE K-MEROS COMO SEÑALES DE PREDICCIÓN DE INTERACCIÓN FAGO-HOSPEDERO

Laura Carolina Camelo Valera^{1,2}, Alejandro Reyes Muñoz^{1,2,3}

¹ Grupo de investigación en Biología Computacional y Ecología Microbiana, Universidad de los Andes, Bogotá-Colombia

² Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes, Bogotá-Colombia

³ Center for Genome Sciences and Systems Biology, Washington University School of Medicine, Saint Louis, MO, USA

e-mail: a.reyes@uniandes.edu.co

Introducción

Las interacciones fago-bacteria juegan un papel muy importante en diversos ecosistemas debido a que regulan la diversidad y abundancia de las comunidades bacterianas de diversos ambientes, las cuales a su vez ejercen un papel fundamental sobre procesos ecológicos como los ciclos biogeoquímicos o el desarrollo de enfermedades en hospederos como plantas o animales. En los últimos años, con el uso de las nuevas tecnologías de secuenciación en estudios metagenómicos, se ha logrado describir un gran número de secuencias pertenecientes a fagos. Sin embargo, puesto que estos datos se generan usando tecnologías independientes de cultivo, el proceso de asignación de hospedero de varios fagos se ha dificultado. En el presente estudio, se desarrolló un modelo de *machine learning* para determinar señales nucleotídicas informativas para la predicción de interacción fago-bacteria.

Materiales y Métodos

Las señales usadas fueron los sesgos de k-meros, estos son métricos de preferencia de uso de k-meros a lo largo de un genoma. Se usaron 1448 genomas de fagos y 3535 genomas bacterianos para generar una matriz de parejas fago-bacteria (21 familias bacterianas), para cada pareja se calculó la diferencia absoluta entre el sesgo de la bacteria y del fago para cada k-mero. A cada pareja se le asignó un tipo de interacción: positiva o negativa, basada en evidencia experimental. Se decidió desarrollar el modelo para predecir interacción a nivel de familia dado que se ha descrito que, un fago puede infectar más de un género bacteriano dentro de una misma familia. Usando el 70% del conjunto de datos, se entrenó un modelo de *random forest* para realizar la predicción, posteriormente el modelo se probó en el 30% restante, la métrica de desempeño del modelo usada fue el área bajo la curva ROC (AUC) y para observar qué taxones son problemáticos para la predicción se usaron matrices de confusión.

Resultados

El AUC obtenido al probar el modelo en el conjunto de datos de test fue de 0.9436. Las matrices de confusión obtenidas sugieren que las clases Bacilli y Gammaproteobacteria son taxones problemáticos, dado que el modelo genera varios falsos positivos entre las familias, e incluso ordenes, de estas clases. Con base en la distancia de Manhattan calculada teniendo en cuenta únicamente los k-meros de mayor

importancia para el modelo, se encontró que esta distancia es significativamente menor cuando la interacción es positiva que cuando es negativa (p -value $< 2.2e-16$, Wilcoxon test).

Conclusiones

La diferencia significativa obtenida para la distancia Manhattan indica que el fago tiende a asemejar su composición genómica a la de la bacteria que infecta, posiblemente para evadir respuesta inmune del hospedero y aumentar la eficiencia de infección. Lo anterior hace posible que el modelo reconozca si hay interacción entre un fago y una bacteria dados a partir de datos nucleotídicos. No obstante, el modelo aún genera un alto número de falsos positivos y falsos negativos dentro de ciertos taxones que son problemáticos, esto sugiere que el modelo puede mejorar si se incluye un mayor número de taxones en el entrenamiento o si se genera una predicción modular a diferentes niveles taxonómicos.

NO TODO LO QUE SOLIDIFICA ES AGAR: BUSQUEDA DE SUSTITUTOS DEL AGAR BACTERIOLÓGICO COMO ESTRATEGIA ALTERNATIVA DE CULTIVO DE MICROORGANISMOS

Sanchez Cardozo, J. A.¹, Tello Camacho, E. ², Ruiz Pardo, R. Y ^{2,3}, Quintanilla Carvajal, M. X.², & Acosta Gonzalez, L. A^{2,4}.

¹ Magister en diseño y gestión de procesos de la Universidad de La Sabana

² Profesor asociado Universidad de La Sabana, Facultad de ingeniería

³ Director de maestría en diseño y gestión de procesos de la Universidad de La Sabana

⁴ Autor corresponsal alejandro.acosta1@unisabana.edu.co

El agar bacteriológico es el agente gelificante más utilizado para producir medios de cultivo sólidos, Pero el problema actual es que la sobreexplotación de las poblaciones de donde se extrae, las algas *Gelidium spp*, está afectando tanto la conservación de las especies mencionadas como aumentado el precio de mercado hasta un 300%. Adicionalmente, el efecto del agente gelificante sobre la selección de los microorganismos cultivables no se ha estudiado a fondo. Por esta razón, el objetivo de esta investigación fue evaluar el potencial gelificante de extractos derivados de productos agroindustriales y gomas comerciales con el fin de obtener medios de cultivos sólidos con capacidad de crecimiento similar al obtenido con medios de cultivo tradicionales basados en agar bacteriológico. Tras una evaluación de mezclas con 6 componentes, se obtuvieron cuatro mezclas como potenciales sustitutos del agar: una mezcla con la misma firmeza del agar, más dos mezclas con una firmeza 40% superior y una última con una firmeza 50% inferior. El análisis de textura permitió concluir que ninguno de los agentes gelificantes incluido el agar se comporta como un agente inerte, químicamente hablando, pues al mezclarse con diferentes medios de cultivo se modifican los parámetros de firmeza debido a las interacciones con los nutrientes, un comportamiento que potencialmente modifica potencialmente el crecimiento de los microorganismos. La evaluación del crecimiento de cepas de referencia de *S. aureus*, *E. coli*, *B subtilis*, *F. oxysporum* y *S cerevisiae*. demostró que ninguna de las mezclas presenta un efecto significativo en el conteo de unidades formadoras de colonia ni efectos en la morfología de los hongos. Sin embargo, la morfología macroscópica de las cepas *S. aureus*, *E. coli* y *B subtilis*. si cambia significativamente. Por otra parte, a partir de la siembra de una muestra de suelo en medio M9 en usencia de fuentes de carbono se obtuvo un recuento de microorganismos que fue significativamente diferentes entre las mezclas y el agar. Para determinar la influencia del agente gelificante, se sembraron las mismas muestras de suelo en medio M9 sin fuente de carbono. Los recuentos entre medios con fuente de carbono y sin fuente de carbono fueron de nuevo significativamente diferentes. Se aislaron un total de 217 cepas de medio sin fuente de carbono con agar, la goma gellan y las mezclas óptimas como agentes gelificantes. Las cepas fueron purificadas y pre-identificadas por MaldiTOF y pertenecen a diferentes grupos taxonómicos bacterianos. Estos microorganismos son de alto interés por que no existe un amplio aislamiento o registro de especies productoras de enzimas degradadoras de diferentes agentes gelificantes. Se encontró que en una de las mezclas óptimas se aumenta la cantidad de células viables recuperadas, así como una mayor diversidad taxonómica en comparación con el agar y los 3 geles óptimos restantes. El presente trabajo seleccionó 4 mezclas de agentes gelificantes que además de ser potenciales sustitutos del agar bacteriológico permiten reducir los costos entre un 4 a 25%.

EVALUACIÓN DE UN CONSORCIO MICROBIANO (RIZOBACTERIAS) CON POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE “CARICA CUNDINAMARQUENSIS J.LINDEN” BAJO INVERNADERO CON APLICACIÓN EN RESTAURACIÓN ECOLÓGICA.

Carolina Jaime ¹, Camilo de los Ángeles Cárdenas ² Liceth Alejandra Cabrejo ³, Paula Andrea Beltran ⁴

¹Microbióloga Industrial, especialista y MSc. Docente Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Grupo de investigación Biología celular y Funcional e Ingeniería de Biomoléculas. Universidad Antonio Nariño, Bogotá-Colombia.

²Biologo, PhD. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Grupo de investigación Ciencias biológicas y químicas . Universidad Antonio Nariño, Bogotá-Colombia.

³Gestor de la Línea de Biotecnología y Nanotecnología Tecnoparque SENA Nodo Bogotá

⁴Tesista. Estudiante de octavo semestre de la Carrera de Bioquímica . Universidad Antonio Nariño.

Palabras Claves: *Carica cundinamarquensis*, Inoculantes, Consorcio microbiano, promoción de crecimiento

El objetivo del trabajo fue el aislamiento e identificación de Rizobacterias con potencial biotecnológico que faciliten el establecimiento y crecimiento de plantas nativas del bosque altoandino, los microorganismos serán usados en procesos de restauración ecológica en zonas alteradas. Buscamos resolver la pregunta: ¿Existen microorganismos PGPR de plantas nativas capaces de establecerse en las condiciones del suelo del bosque altoandino? . Se utilizaron medios microbiológicos para el aislamiento en medios de cultivo selectivos, se evaluó la producción de metabolitos como Auxinas (Ácido Indol acético) y fijación de amonio in vitro se evaluaron 38 cepas por métodos cuantitativos y cualitativos, de las cuales se seleccionaron 3 cepas promisorias identificadas como RBKB33, RBFN33 y RBMRS13 a las que se realizaron las curvas de crecimiento en caldo Ashby , caldo MRS y Caldo King B. Se determinaron las condiciones de crecimiento del consorcio, la concentración celular de cada cepa sin efectos antagónicos entre ellas. Al mismo tiempo se evaluó a escala de vivero el efecto del consorcio microbiano sobre el crecimiento de una especie de planta nativa del bosque alto andino *Carica cundinamarquensis* con el fin de favorecer el crecimiento de estas plantas, su adaptación y viabilidad para ser usadas en los procesos de restauración ecológicas en zonas alteradas por acción antrópica.

Resultados

Las variables evaluadas a través de un análisis GLM son la altura y grosor del tallo. El consorcio liquido mostro evidencia, diferencias significativas en el crecimiento de las plantas inoculadas ($P < ,0001$). Además, se midió el efecto del consortium de microorganismos sobre la ganancia de biomasa, las plantas que recibieron el tratamiento tuvieron un peso promedio de 8,42 +/- 0,22 gramos (media; +/- SE), mientras que las que no recibieron tratamiento arrojaron un peso promedio de 4,06 +/- 0,20 gramos (media +/- SE) y el análisis mostro diferencias muy significativas entre los dos grupos de plantas ($F=204,35$ $P=0,00001$).

Conclusiones:

El consorcio microbiano demostró un efecto favorable de los microorganismos sobre el crecimiento de *Carica cundinamarquensis*