

# MEMORIAS

---

# BOGOTÁ MICROBIAL MEETING



**Universidad de los Andes - 18 de agosto de 2017**

**Con el apoyo de**



AMERICAN  
SOCIETY FOR  
MICROBIOLOGY



Universidad de  
los Andes

## MEMORIAS

### BOGOTÁ MICROBIAL MEETING



Memorias  
Bogotá Microbial Meeting –  
BoMM 2017

Publicación anual  
Segunda Edición  
Bogotá, Colombia  
18 de agosto de 2017  
ISSN 2539-2999 en línea

#### Editores

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

**Angela Cantillo.** Corpogen-Bogotá/  
Universidad de los Andes. Bogotá

**Carolina Díaz.** Pontificia Universidad Javeriana - Bogotá

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

**Santiago Hernández.** Estudiante de Maestría. Universidad de los Andes. Bogotá.

**Alejandro Caro.** Investigador. Corpoica sede Tibaitatá, Mosquera.

**Zulma Suárez.** Directora de Investigación y Desarrollo – VECOL S.A; Embajadora joven "ASM".

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

**Andrea Borbón García.** Estudiante de Maestría. Universidad de los Andes. Bogotá.

**Viviana Clavijo.** Estudiante de Doctorado. Universidad de los Andes. Bogotá.

**Lorena Díaz.** Profesora Asociada. Universidad del Bosque. Bogotá



## Tabla de contenido

<b>PONENCIAS ORALES BOMM 2017 .....</b>	<b>5</b>
<b>Epidemiología molecular e interacciones virus-hospedero de alphacoronaviruses en carnívoros salvajes en el ecosistema del Serengueti .....</b>	<b>6</b>
<b>Caracterización y evaluación in vitro de la estabilidad de bacteriófagos de <i>Propionibacterium acnes</i> incorporados en formulaciones.....</b>	<b>7</b>
<b>Caracterización Genómica de <i>Enterococcus faecium</i> Resistente a Vancomicina en América Latina .....</b>	<b>8</b>
<b>Bases genéticas asociadas a la sensibilidad de <i>Phytophthora infestans</i> al fungicida mefenoxam mediante un estudio de asociación de genoma completo .....</b>	<b>9</b>
<b>Desarrollo de un modelo dinámico comparado con datos de metabolómica y transcriptómica de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> para describir distintos fenotipos a diferentes niveles de CO<sub>2</sub>.....</b>	<b>10</b>
<b>Uso de extractos enzimáticos en el pretratamiento de la cascarilla de cebada para la producción de xilitol .....</b>	<b>11</b>
<b>Evaluación del perfil metabólico de un consorcio de cianobacterias bentónicas arrecifales del caribe colombiano bajo condiciones de cultivo .....</b>	<b>12</b>
<b>Origen de la microbiota en mosquitos <i>Anopheles albimanus</i>, ¿Herencia o adquisición? .....</b>	<b>14</b>
<b>Estrategia de valorización bioenergética de residuos agroindustriales en Colombia.....</b>	<b>16</b>
<b>Descargas de plasma como alternativa en los procesos de biotransformación de plásticos .....</b>	<b>17</b>
<b>Caracterización de la microbiota intestinal de un vector principal de malaria en el Pacífico Colombiano alimentado con o sin sangre .....</b>	<b>19</b>
<b>Caracterización de la microbiota intestinal de larvas y adultos de <i>Anopheles albimanus</i> colectados en una localidad del Pacífico Colombiano .....</b>	<b>20</b>
<b>Dinámicas microbianas en un campo de producción de algodón con prácticas sostenibles en un ambiente semiárido del occidente de Texas.....</b>	<b>21</b>
<b>Definiendo un Core Genoma para los Herpesvirales y Elucidando su Relación Evolutiva con los Caudovirales.....</b>	<b>22</b>

Identificación de genes lipolíticos en el ADN metagenómico de las bacterias epífitas de macroalgas verdes de la especie <i>Ulva lactuca</i> .....	23
Diversidad de micromicetos en el área periurbana de Villavicencio .....	24
Búsqueda de nuevas unidades transcripcionales y posibles riboswitches en <i>Deinococcus swuensis</i> a través de RNA-seq y ensamblaje guiado por genoma bajo condiciones de estrés por irradiación. ....	25
Producción biotecnológica de xilitol en hidrolizado de cascarilla de cebada suplementado y sin suplementar.....	27
Línea de investigación en toxinas de microorganismos relacionados con ambientes extremos, del grupo de Investigación en Ciencias Biológicas y químicas de la Universidad Antonio Nariño.....	28
Generación y caracterización de amastigotes axénicos de <i>Leishmania (Viannia) panamensis</i> .....	29
Evidencia de resistencia antimicrobiana de microorganismos bacterianos asociados a procesos cariogénicos.....	30
Estudio retrospectivo de caninos y felinos infectados con protozoos y helmintos potencialmente zoonóticos. Universidad de Santander (UNDES) Bucaramanga.....	31
Perfil toxicológico y actividad anti- <i>Leishmania</i> del trans- $\beta$ -cariofileno en modelos experimentales .....	32
Diversidad del gen <i>ompL1</i> de cinco especies patógenas de <i>Leptospira</i> spp. ....	33
Bacterias aisladas de ambientes marinos como una opción en el control de agentes fitopatógenos.....	34
Estudio de la producción de metabolitos antifúngicos en <i>Streptomyces</i> 5.1 por mutagénesis al azar y Rep-PCR .....	35
Actividad antifúngica de bacterias derivadas de ambientes marinos frente a los hongos fitopatógenos <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . 36	
Selección y producción de bacterias solubilizadoras de fosfato empleando roca fosfórica como sustrato .....	37
Herramientas biotecnológicas: Búsqueda de cultivos iniciadores para fermentación de Cacao en Colombia .....	39
Microorganismos del Caribe Colombiano como fuente de compuestos para el control de fitopatógenos: Explorando la diversidad química en mono y co-cultivos .....	40
La levadura oleagosa <i>Meyerozyma guilliermondii</i> BI281A: selección y perfil lipídico . 42	

Potencial de degradación de compuestos xenobióticos de las comunidades bacterianas en suelos de manglar mediante secuenciación Illumina del gen 16S ARNr .....	44
Remoción de grasas y aceites en aguas residuales: estudio comparativo de coagulantes químicos, <i>Moringa oleifera</i> y caracterización de una comunidad microbiana con actividad lipolítica .....	46
Comportamiento de un reactor tipo air-lift como selector a diferentes pH del sustrato en el proceso de producción de PHA .....	48
Análisis de expresión génica durante el proceso de fermentación de cacao: primera aproximación .....	49
Evaluación de la actividad antibacteriana de las secreciones producidas por la piel de la rana <i>Hypsiboas crepitans</i> en simbiosis con su microbiota nativa.....	52
Caracterización de la microbiota intestinal de larvas y adultos de <i>Anopheles albimanus</i> colectados en una localidad del Pacífico Colombiano .....	53
Identificación de microorganismos halófilos y halotolerantes con actividad antimicrobiana y citotóxica .....	54
La separación por tamaño celular como una herramienta para mejorar la caracterización de la diversidad, función y abundancia del microbioma ruminal: Resultados preliminares .....	55
Prediciendo el potencial metabólico en el microbioma intestinal del Oso Andino: Implicaciones para manejo en cautiverio.....	56
Efectos antrópicos sobre comunidades microbianas acuáticas y marcadores de resistencia a antibióticos .....	58
Efecto de la acumulación de cadmio sobre el microbioma asociado a las hojas de <i>Theobroma cacao</i> .....	60
Caracterización genómica de aislamientos clínicos de Enterobacteriaceae portadores del gen <i>mcr-1</i> en un período 2012 a 2016 en Colombia .....	61
Estudio piloto de la aplicación de Fenton heterogéneo para la inactivación de <i>E. coli</i> en agua residuales de docencia en la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana (PUJ).....	64
Caracterización microbiológica de especies de <i>Pseudomonas</i> en una matriz de suelo sometida a proceso de bioaumentación y bioestimulación.....	65
Comparación de la resistencia bacteriana a diferentes tipos de desinfectantes .....	66

<b>Resistencia a linezolid mediada OptrA en un aislamiento clínico de <i>Enterococcus faecalis</i> de Colombia .....</b>	<b>68</b>
<b>¿Puede la secuenciación de genoma completo (WGS) identificar los aislamientos heterogéneos de <i>Staphylococcus aureus</i> intermedio a vancomicina (hVISA)?.....</b>	<b>69</b>
<b>Caracterización clínica y molecular de <i>Staphylococcus aureus</i> susceptible a meticilina (SASM) de pacientes que presentaron falla terapéutica a cefalosporinas .....</b>	<b>71</b>
<b>Prevalencia y susceptibilidad antimicrobiana de bacterias potencialmente patógenas aisladas de elementos recreativos en parques públicos de Bogotá, Colombia.....</b>	<b>73</b>
<b>Producción en plantas de un antígeno relacionado a la enfermedad de Alzheimer empleando un vector viral inducible.....</b>	<b>74</b>
<b>Prevalencia de mutaciones no sinónimas en genes, que codifican para proteínas transportadoras putativas de islados de <i>Plasmodium vivax</i> con diferentes niveles de resistencia a Cloroquina .....</b>	<b>75</b>

# **PONENCIAS ORALES BOMM 2017**

## **Epidemiología molecular e interacciones virus-hospedero de alphacoronaviruses en carnívoros salvajes en el ecosistema del Serengueti**

**Ximena A Olarte-Castillo<sup>1</sup> Felix Heeger<sup>2</sup>, Alex Greenwood<sup>1</sup>, Camila Mazzoni<sup>2</sup>, Heribert Hofer<sup>1</sup>, Marion East<sup>1</sup>**

1. Institute for Zoo and Wildlife Research, Alfred-Kowalke-Strasse 17, D-10315 Berlin, Germany. 2. Berlin Center for Genomics in Biodiversity Research, Königin-Luise-Straße 6-8, 14195 Berlin, Germany

Los coronavirus (CoV) infectan humanos, animales domésticos y varias especies salvajes mamíferas y aviares. Dada esta gran diversidad de hospederos, es necesario explorar el papel de las especies salvajes en la epidemiología molecular y la evolución de los coronavirus. Dentro de los CoV, el género *Alphacoronavirus* contiene virus ampliamente estudiados, incluyendo el coronavirus felino y el canino (FCoV y CCoV, respectivamente) que infectan varias especies de carnívoros domésticos y salvajes. En este estudio se evaluó la diversidad genética de *Alphacoronavirus* que circulan en dos especies simpátricas de carnívoros africanos, la hiena de puntos (*Crocuta crocuta*) y el chacal de espalda plateada (*Canis mesomelas*), en el ecosistema del Serengueti entre los años 2001 y 2012. El monitoreo a largo plazo de una población de hienas punteadas reconocidas individualmente reveló grandes fluctuaciones anuales de la prevalencia de infección y un análisis genético reveló que diferentes variantes circularon durante cada brote de infección. Adicionalmente se estudió la interfaz virus-hospedero. Para esto se realizaron análisis genéticos comparativos de cepas de *Alphacoronavirus* de varios hospederos basados en la proteína S, la cual se encuentra en la superficie viral e interactúa directamente con el receptor del hospedero permitiendo la entrada del virus a la célula. Asimismo se secuenció el gen que codifica el receptor de *Alphacoronavirus*, la aminopeptidasa N (APN) de 15 especies de carnívoros salvajes pertenecientes a cinco diferentes familias. Usando análisis genéticos comparativos y la estructura terciaria de la interfaz entre virus y hospedero se revelan posibles mecanismos de adaptación a sus respectivos hospederos carnívoros salvajes.



**Caracterización y evaluación in vitro de la estabilidad de bacteriófagos de *Propionibacterium acnes* incorporados en formulaciones**

**Baquero, D. & Vives, M.**

Centro de Investigaciones Microbiológicas, Universidad de los Andes, Colombia

El acné es una enfermedad de la piel que causa inflamación crónica de las unidades pilosebáceas, enrojecimiento en el área afectada y lesiones en la piel. Se ha postulado que la bacteria *Propionibacterium acnes* se encuentra involucrada en el acné al causar una respuesta inflamatoria en el huésped. La formulación de antibióticos, generalmente, hace parte del tratamiento integral contra la enfermedad; sin embargo, la resistencia de la bacteria a la eritromicina y clindamicina se encuentra en aumento. La fagoterapia, el uso de virus que infectan cepas bacterianas específicas, surge como una alternativa al uso de antibióticos. En el presente trabajo se aislaron, caracterizaron e incorporaron bacteriófagos de *P. acnes* en formulaciones para establecer su efectividad infectando *P. acnes* in vitro; se determinó la estabilidad de los fagos incorporados en diferentes condiciones de temperatura y luz, ambas características indispensables en un producto a emplearse en fagoterapia. Los fagos aislados presentaron un alto rango de hospedero dentro de la especie, sus genomas son altamente conservados entre sí y no se encontraron genes involucrados en lisogenia o producción de toxinas. A partir de los estudios de estabilidad térmica se estableció que los fagos de *P. acnes* mantienen su título viral en temperaturas de 4 y 25°C, al menos por tres meses, cuando son incorporados en formulaciones de Buffer SM. Sin embargo, en presencia de luz la estabilidad de los fagos disminuyó a través del tiempo. Los resultados permiten proponer una posible formulación inicial viable en la cual se puedan incorporar fagos de *P. acnes* con el fin de usarlos como posible solución a la elevada resistencia de *P. acnes* a los antibióticos convencionales.

## Caracterización Genómica de *Enterococcus faecium* Resistente a Vancomicina en América Latina

Ríos R<sup>1</sup>, Díaz L<sup>1,2</sup>, Reyes J<sup>1,2</sup>, Munita JM<sup>2,3</sup>, Porras P<sup>1</sup>, Cardona N<sup>1</sup>, Echeverri AM<sup>1</sup>, Carvajal LP<sup>1</sup>, Panesso D<sup>1,2</sup> and Arias CA<sup>1,2</sup>

1.Unidad de Genética y Resistencia Molecular – Centro Internacional de Genómica Microbiana, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia, 2. Center for Antimicrobial Resistance and Microbial Genomics, University of Texas McGovern Medical School at Houston, Houston, TX, 3Genomics and Resistant Microbes (GeRM) Group, Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Chile.  
lorenadiaz@yahoo.com.ar

*Enterococcus faecium* resistentes a Vancomicina (EfmRV) son usualmente organismos multidrogo resistentes que se han convertido en un desafío terapéutico en diversos lugares del mundo, incluyendo América Latina. Debido a su capacidad para modificar su genoma, el estudio de la epidemiología molecular de EfmRV ha sido problemática. Para poder entender mejor la epidemiología molecular y la evolución de este patógeno en América Latina, realizamos secuenciación de genoma completo (WGS) a una colección de aislamientos clínicos de EfmRV obtenidos durante vigilancias multinacionales entre 1998 y 2014.

Métodos: A partir de nuestra colección de EfmRV, seleccionamos y secuenciamos 55 aislamientos de 5 países de América Latina. Realizamos una reconstrucción filogenética usando máxima verosimilitud (ML) a partir del core genome incluyendo también otros 91 genomas de *E. faecium* obtenidos del NCBI. De esta reconstrucción se seleccionaron los aislamientos agrupados dentro del clado clínico, los cuales fueron utilizados para un segundo análisis filogenético basado en sitios polimórficos no recombinantes usando el genoma Aus0085 de *E. faecium* como referencia. Adicionalmente se identificaron elementos genéticos asociados a resistencia, virulencia y plásmidos utilizando las bases de datos ResFinder, VirulenceFinder y PlasmidFinder.

Resultados: El primer árbol filogenético mostró dos clados principales, uno de ellos agrupo aislamientos obtenidos principalmente de fuentes ambientales o comunitarias mientras que en el otro los aislamientos fueron obtenidos de fuentes animales y clínicas. El segundo árbol mostró tres subpoblaciones, una asociada a fuentes animales (clado A) y las otras dos asociadas a fuentes clínicas (clados B y C). Los aislamientos de EfmRV latinoamericanos se agruparon dentro de los clados B y C, con excepción de 5 aislamientos, 3 de Argentina y 2 de Brasil, que se encontraron en el clado A y cuyas secuencias fueron obtenidas del NCBI. Los aislamientos de los clados B y C presentaron mayor presencia de elementos de resistencia y virulencia que aquellos del clado A.

Conclusiones: Se encontraron características distintivas entre los aislamientos con origen animal y clínico. Los aislamientos latinoamericanos de EfmRV se agruparon en dos subpoblaciones diferentes sugiriendo una diseminación clonal de linajes específicos dentro de la región.

Financiado: por la Universidad El Bosque

**Bases genéticas asociadas a la sensibilidad de *Phytophthora infestans* al fungicida mefenoxam mediante un estudio de asociación de genoma completo**

**D.A. Ayala Usma<sup>1,2</sup>, G. Danies Turano<sup>2</sup>, A. Reyes<sup>1</sup> y S. Restrepo<sup>2</sup>.**

1.Grupo de Biología Computacional y Ecología Microbiana, Universidad de los Andes.2.Laboratorio de Micología y Fitopatología, Universidad de los Andes

Pese a la utilidad y practicidad de los fungicidas para el control de *Phytophthora infestans*, causante del tizón tardío en papa y tomate, el patógeno ha sido capaz de desarrollar resistencia a varios de estos. Por ende, es crítico comprender la base genética de esta resistencia y así lograr un mejor manejo. En este estudio realizamos una asociación de genoma completo (GWAS) para identificar marcadores moleculares relacionados con la sensibilidad a mefenoxam en aislamientos de tres poblaciones de *P. infestans* del continente americano.

**Materiales y métodos:** Se realizó genotipado por secuenciación (GBS, por sus siglas en inglés) de 64 aislamientos de tres poblaciones del continente americano en la plataforma Illumina. El descubrimiento de polimorfismos de nucleótidos únicos (SNPs) se realizó según el procedimiento de GBS del software NGSEP utilizando dos genomas de referencia de *P. infestans*. Se realizaron filtros de regiones repetitivas, de frecuencia de alelo menor, de calidad de genotipo y de espaciado mínimo entre variantes, entre otras.

El fenotipo de resistencia a mefenoxam se midió, por triplicado, como la proporción del crecimiento radial de un aislamiento de *P. infestans* en agar arveja suplementado con 100 µg ml<sup>-1</sup> de mefenoxam con respecto al crecimiento en el mismo medio sin fungicida.

Para el análisis de asociación, se ajustaron modelos lineales generales con corrección por estratificación de población y modelos lineales mixtos con corrección por estratificación y parentescos crípticos. Los análisis de estratificación se realizaron con STRUCTURE, PCA y fastSTRUCTURE y la asociación en TASSEL v.5.

**Resultados:** En un total de ~22.000 SNPs recuperados en ambos genomas se identificaron un total de 67 potenciales variantes con asociación estadísticamente significativa con la resistencia en regiones codificantes y de ARNs antisentido.

**Conclusiones:** Las tecnologías de GBS permitieron identificar regiones candidatas para la resistencia al fungicida que se podrán evaluar experimentalmente para una mejor comprensión de los mecanismos moleculares asociados a esta.

## **Desarrollo de un modelo dinámico comparado con datos de metabolómica y transcriptómica de *Chlamydomonas reinhardtii* para describir distintos fenotipos a diferentes niveles de CO<sub>2</sub>**

**Daniela Alejandra Mora Salguero**

Universidad de los Andes, GDPP Grupo de Diseño de Productos y Procesos

El incremento de CO<sub>2</sub> en la atmósfera por actividades antropogénicas ha generado cambios climáticos los cuales tienen como consecuencias aumento en la temperatura global y alto impacto ambiental. La mitigación biológica es una alternativa que busca la reparación ambiental y reducción de gases efecto invernadero, mediante la implementación de organismos fotosintéticos de fácil adaptación, bajo costo de operación y en muchos casos con alto potencial industrial. Entre diferentes especies de microalgas *Chlamydomonas reinhardtii* ha sido considerada un organismo modelo para el estudio de diferentes mecanismos celulares bajo distintas condiciones ambientales, es un organismo prometedor para la fijación de CO<sub>2</sub> y producción de bioenergía. El entendimiento de las rutas metabólicas que están involucradas en la adquisición de CO<sub>2</sub> es fundamental para la identificación de metabolitos que contribuyen al crecimiento celular y producción de biomasa. Algunos métodos *in silico* usados para analizar el comportamiento celular bajo diferentes condiciones de crecimiento y simular los cambios metabólicos que ocurren en las células son: El Análisis de Balance de Flujo (FBA) el cual describe el sistema en estado estacionario y Análisis de Balance de Flujo Dinámico (DFBA) simula sobre un periodo de tiempo. En este trabajo fueron comparados datos de transcriptómica y metabolómica con los resultados predichos por nuestro modelo reconstruido de la red metabólica en estado estacionario y dinámico a diferentes niveles de CO<sub>2</sub>, con el fin de mejorar la capacidad predictiva de rutas metabólicas para la producción de biomasa y entender los procesos de respuesta de *C. reinhardtii*. Se generó un modelo de la red metabólica a escala genómica de la microalga *C. Reinhardtii*, el cual es altamente predictivo, sensible a cambios ambientales tanto en estado estacionario como dinámico y significativamente mejorado comparado con modelos previos. Nuestro modelo actual consta de 3726 reacciones y 2436 metabolitos, incluye parámetros cinéticos como restricciones adicionales asociados al consumo de sustrato a diferentes condiciones de crecimiento (bajo CO<sub>2</sub> y alto CO<sub>2</sub>). Nuestros resultados sugieren que las células a altas concentraciones de CO<sub>2</sub> tienen la capacidad de incrementar la producción de biomasa, también se encontró que la producción de ATP es una restricción importante para el crecimiento dependiendo de las condiciones ambientales. Así mismo, se observa un comportamiento diferencial entre condiciones de bajo CO<sub>2</sub> y alto CO<sub>2</sub> en datos experimentales (metabolómica y transcriptómica) y en los resultados predichos. De igual forma, hasta ahora no hay reportes de DFBA en *C. reinhardtii*, por lo cual, los resultados predichos por nuestro modelo permiten entender la respuesta biológica a cambios ambientales y genéticos en *C. reinhardtii* como entidad dinámica, siendo de gran interés dado el potencial biotecnológico tanto para fijación de CO<sub>2</sub> como para acumulación de biomasa y producción de bioenergía.

## Uso de extractos enzimáticos en el pretratamiento de la cascarilla de cebada para la producción de xilitol

**García- Castillo C., Díaz- García L., Bernal S., Gómez L. Quevedo-Hidalgo B., Gutiérrez-Rojas I.,**

Laboratorio de Biotecnología Aplicada, Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI),  
Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencia, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.  
C., Colombia

La cascarilla de cebada representa el 85% de los co-productos generados en la industria cervecera. Por su contenido de hemicelulosa (46.1%) y celulosa (20.2%), se ha convertido en un sustrato atractivo para la obtención de azúcares fermentables. Esto generalmente se lleva a cabo empleando tratamientos químicos que pueden contaminar e inhibir procesos posteriores. Por lo anterior, el objetivo del estudio fue evaluar la efectividad de extractos enzimáticos, con actividad endoxilanasas o lacasa, en la liberación de xilosa para la obtención final de xilitol. Para cada actividad enzimática se desarrolló un diseño central compuesto, en el que se evaluaron dos factores: dosis (155 a 1145 U/g) y concentración de sustrato (2.4 a 6.6 %), para el extracto con actividad endoxilanasas, y dosis (0 a 12 U/g) y tiempo (1.8 a 10.2 horas), en el otro caso. Inicialmente se evaluó el extracto con actividad endoxilanasas, obtenido de *Penicillium* sp. HC1. Este demostró ser efectivo en la liberación del 15 % de la xilosa esperada, en las reacciones con 6 a 6.6% de cascarilla, 650 a 1000 U/g de dosis y entre 6 y 8 horas de tratamiento. Posteriormente, se realizó la evaluación del extracto con actividad lacasa, obtenido de *P. ostreatus* HPB/P3, previo a la hidrólisis con endoxilanasas. La concentración máxima alcanzada de xilosa en los hidrolizados fue de  $2.95 \pm 0.28$  g/L, con 10 U/g de dosis enzimática lacasa y 3 horas de tiempo de acción. Sin embargo, este valor no superó el 15% de liberación de xilosa previamente alcanzado. Finalmente, se realizó la fermentación a xilitol con *Candida tropicalis* FTI 20037, del hidrolizado obtenido empleando únicamente el extracto con actividad endoxilanasas. Con una concentración inicial de xilosa de 3,3 g/L en el hidrolizado, fue posible obtener un rendimiento producto sustrato (Y p/s) de  $0.405 \pm 0.058$  g xilitol/g xilosa, correspondiente al 44% del valor teórico esperado (0.9 g xilitol/g xilosa). En conclusión, este trabajo permitió establecer que es posible tratar la cascarilla de cebada únicamente con extractos enzimáticos con actividad endoxilanasas y producir xilitol, sin necesidad de emplear procesos químicos, siendo este un proceso innovador y ambientalmente sostenible.

## **Evaluación del perfil metabólico de un consorcio de cianobacterias bentónicas arrecifales del caribe colombiano bajo condiciones de cultivo**

**Becerra L.<sup>1</sup>, Puyana M.<sup>2</sup>, Ramos F.<sup>3</sup>, Castellanos L.<sup>3</sup>**

1. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Facultad de Ciencias. Posgrado Interfacultades de Microbiología. Av. Carrera 45 # 26-85, Bogotá D.C. Colombia. E-mail: lmbecerrar@unal.edu.co.
2. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Programa de Biología Marina. Carrera 4 # 22-61, Bogotá D.C. Colombia.
3. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Av. Carrera 30 # 45-03, Bogotá D.C. Cód. postal 111321. Colombia.

Las cianobacterias bentónicas marinas producen compuestos con potente actividad biológica y potencial biotecnológico, en respuesta a diversos factores ambientales. El presente estudio busca seleccionar un consorcio de cianobacterias bentónicas con actividad insecticida y evaluar el efecto de las concentraciones de fósforo, hierro y nitrógeno, en su perfil metabólico y actividad biológica. **Materiales y métodos.** Se establecieron cultivos de 19 consorcios obtenidos a partir de tapetes de cianobacterias del Caribe colombiano, empleando una formulación del medio de cultivo SWBG-11 provista de Fe(III)EDTA. Éstos fueron inoculados en volúmenes mayores (100, 200 y 300 mL) para seleccionar aquellos resistentes a la manipulación. Se realizaron pruebas de actividad biológica de sus extractos frente al mosquito vector de enfermedades *Aedes aegypti* y el crustáceo *Artemia salina* (indicador de ecotoxicidad). El consorcio con mayor potencial insecticida fue sometido a variaciones en las concentraciones de fósforo, hierro y nitrógeno, para evaluar su efecto en la actividad biológica y el perfil metabólico del consorcio empleando técnicas analíticas de alto rendimiento (LC-MS) y análisis multivariados. **Resultados.** La formulación modificada del medio SWBG-11 incrementó la biodisponibilidad del hierro y promovió el crecimiento de los consorcios, entre los cuales cinco sobrevivieron a procesos de resuspensión en volúmenes mayores. Los extractos crudos de tres de ellos (CB05, CB06 y CB16) resultaron ecotóxicos, mientras que el extracto crudo del consorcio CB09 fue poco ecotóxico (CL50 = 250 µg/mL) y activo frente al mosquito *A. aegypti*. Los cambios en las concentraciones de fósforo, hierro y nitrógeno tuvieron un efecto en el perfil metabólico y la actividad biológica del consorcio CB09. Las condiciones de limitación y depleción de nutrientes incrementaron la producción de los compuestos C1 (tr 7,6 min; m/z 515,314) y C2 (tr 8,7 min; m/z 593,282) y propiciaron la biosíntesis de los compuestos C7 (tr 9,8 min; m/z 282,276) y C8 (tr 14,0 min; m/z 621,448), todos ellos relacionados con un incremento de la actividad insecticida de los extractos. **Conclusiones.** Las cianobacterias bentónicas marinas son una fuente potencial de compuestos con actividad insecticida. La concentración de nutrientes modula la producción de tales compuestos y su efecto puede ser evaluado mediante el uso de técnicas metabolómicas y análisis multivariados.

Palabras clave: Cultivo microbiano, SWBG-11, Actividad larvica, Metabolómica, Perfilado metabólico.

## Origen de la microbiota en mosquitos *Anopheles albimanus*, ¿Herencia o adquisición?

**Yadira Galeano-Castañeda<sup>1</sup>, Paula A. Urrea<sup>1</sup>, Stefani Piedrahita<sup>1</sup>, Priscila Bascuñán-García<sup>1</sup>, Nicola Segata<sup>2</sup>, Francesco Beghini<sup>2</sup>, David Serre<sup>3</sup>, Margarita M. Correa<sup>1</sup>.**

1 Grupo de Microbiología Molecular. Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia, Medellín. Colombia. 2. Laboratory of Computational Metagenomics. University of Trento. Trento, Italia. 3. Institute of Genome Sciences, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, USA

La microbiota en insectos juega un papel importante en el crecimiento, metabolismo y protección a patógenos. Los mosquitos adquieren la microbiota a través de la alimentación, en el cambio de estadio de larva a adulto y de manera vertical de la hembra al huevo; sin embargo, aún existe un debate de cuál de éstas fuentes influye más en la composición de sus comunidades bacterianas. En los últimos años se ha revelado un papel importante de algunas bacterias intestinales de los mosquitos vectores, *Anopheles*, en la reducción de formas parasitarias de *Plasmodium* en su intestino. La caracterización de estas bacterias es de importancia para buscar candidatas de biocontrol de la transmisión de la malaria . En este estudio se caracterizó la microbiota bacteriana intestinal de *Anopheles albimanus* en larvas, mosquitos capturados en campo y mosquitos emergidos de larvas, con el objetivo de dilucidar el papel del ambiente y el paso trans-estadio, en la composición de la comunidad bacteriana intestinal de estos mosquitos. Se realizó la caracterización por métodos dependientes de cultivo y se amplificó y secuenció el gen 16S rDNA-V2 por Illumina-Mi seq del ADN total. Se encontró una mayor riqueza en los mosquitos colectados con predominio de *Bacillus* spp. con respecto a los mosquitos emergentes; mientras que *Acinetobacter* spp. y *Enterobacter* spp. predominaron en los mosquitos emergentes, además, se evidenció una disminución en el número de taxones en el paso trans-estadial de larva a adulto. La historia de vida de los mosquitos revela una franca influencia del ambiente en la composición de las comunidades bacterianas en mosquitos adultos y evidencia una colonización bacteriana después del paso de larva a adulto.



## **El microbioma de la fermentación de granos de Cacao: Una herramienta para optimizar la calidad del Cacao en Colombia**

**Pacheco-Montealegre M.E<sup>1,2</sup>, Davila-Mora L.L<sup>1</sup>, Botero-Rute L.M<sup>1</sup>, Reyes Muñoz A<sup>2</sup> & Caro-Quintero A<sup>1</sup>**

1. Centro de Investigación Agropecuaria CORPOICA sede Tibaitatá, Mosquera. 2. Laboratorio de Biología Computacional y Ecología Microbiana BCEM - Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes, Bogotá.

La fermentación de granos de cacao es un proceso esencial para la producción de cacao fino y de aroma, catalizado por microorganismos que transforman la pulpa del grano. Trabajos describiendo la sucesión microbiana han sido realizados con métodos dependientes de cultivo, limitando el entendimiento de la ecología microbiana durante la fermentación. Con el propósito de optimizar la calidad del cacao fermentado, en este trabajo caracterizamos la dinámica de los microorganismos, sus interacciones y posibles fuentes de inóculo.

Para esto, se monitoreó el proceso fermentativo durante dos periodos de 2016, en fincas de Antioquia, Huila y Santander. Se colectó muestras de granos de cacao de la zona superior e intermedia del cajón fermentador, se extrajo el ADN y se amplificó el 16S rARN (bacterias) e ITS (hongos). Las librerías se secuenciaron con la plataforma MiSeq (Illumina). Se usó Qiime para la determinación de Unidades Taxonómicas Operacionales (UTO). La dinámica microbiana fue calculada como la tasa de crecimiento/decrecimiento de las UTO durante la fermentación y las interacciones se exploraron con redes de co-ocurrencia usando Cytoscape. Finalmente, Oligotyping se usó para la determinación de oligotipos, y SourceTracker para identificar posibles fuentes de origen de las bacterias. El análisis taxonómico de las lecturas permitió observar los mismos grupos, de bacterias y hongos, para todos los procesos de fermentación evaluados, independiente de la época del año y localización geográfica. En las bacterias se presentaron 6 UTOs y para hongos 4 UTOs. No obstante, los cambios en la abundancia y la velocidad de la sucesión se relacionaron con los protocolos o condiciones agroecológicas de las regiones. El análisis de dinámica e interacción permitió identificar relaciones de competencia entre microorganismos. Finalmente, el análisis de oligotyping permitió distinguir “cepas” dominantes y transitorias durante el proceso. En conclusión, los procesos de fermentación en Colombia presentan poblaciones microbianas con estructuras similares, lo que demuestra que el microbioma es un indicador del proceso fermentativo, generalizable a las diferentes regiones. Por otro lado, la presencia de cepas durante la fermentación en cada región, permite generar hipótesis sobre el efecto de las adaptaciones microbianas en la calidad de granos fermentados de cada finca.

## **Estrategia de valorización bioenergética de residuos agroindustriales en Colombia.**

**Licelly Canizales González<sup>1</sup>, Edgar Blanco<sup>2</sup>, María Francisca Villegas-Torres<sup>1</sup>**

1Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Icesi, Santiago de Cali-Colombia, [licanizales@icesi.edu.co](mailto:licanizales@icesi.edu.co) 2.Anaero Technology Ltd, Cambridge, UK.

Las escasas alternativas en el manejo y aprovechamiento de residuos agroindustriales en el país han hecho de estos una de las principales fuentes de contaminación de los recursos naturales, sin embargo, pese a que estos residuos no poseen un valor significativo en los procesos de transformación productiva pueden servir como materia prima en la generación de otro tipo de productos, por lo que es conveniente la incorporación de tecnologías que permitan su utilización no solo para darles a estos un valor agregado sino en pro de la mitigación de sus impactos ambientales. La industria azucarera en Colombia genera toneladas de residuos anualmente, producto de las actividades de cosecha de caña de azúcar principalmente para la producción de azúcar y bioetanol. Entre los subproductos generados están la cachaza, bagazo, residuos agrícolas de cosecha (RAC) y vinaza, los cuales son utilizados principalmente como materia prima en la elaboración de compost, sin embargo, una gran porción debe dejarse de lado debido a los volúmenes generados. De esta forma, la implementación de nuevas estrategias de valoración y aprovechamiento se hacen necesarias. En este trabajo se evaluó la digestión anaerobia (DA) como estrategia de valorización de los residuos del sector azucarero, a través de la evaluación del potencial de biometano (BMP) de diferentes residuos generados a partir del procesamiento de la caña de azúcar. Los resultados sugieren que las vinazas tienen alto potencial de producción de biometano y este a su vez, se ve afectado por procesos industriales como la evaporación. La co-digestión de las vinazas con otros residuos de alto contenido de carbono mejoran significativamente el BMP. Actualmente estamos trabajando en la evaluación de estrategias para la optimización de la producción de biometano de estos residuos. Este trabajo permitirá a la industria azucarera la implementación de la DA como una estrategia de valorización de sus residuos reduciendo su impacto medio ambiental e incrementando la producción de energía renovable.

## Descargas de plasma como alternativa en los procesos de biotransformación de plásticos

Luis David Gómez-Méndez<sup>1</sup>; Diana Alejandra Moreno-Bayona<sup>1</sup>, Aura Marina Pedroza-Rodríguez<sup>1</sup>,  
Juan Carlos Salcedo-Reyes<sup>2</sup>, Raúl Alberto Poutou-Piñales<sup>3</sup>

1.Laboratorio de Microbiología Ambiental y de suelos. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 2.Laboratorio de Películas Delgadas y Nanofotónica. Departamento de Física. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 3.Laboratorio de Biotecnología Molecular. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.

Las descargas de plasma alteran la humectabilidad y las propiedades de adhesión de muchos polímeros por cambios químicos y físicos en su superficie. Esta propiedad es aprovechada por la industria del plástico para la impresión de tintas en superficies hidrofóbicas o para la limpieza de superficies, al eliminar compuestos orgánicos e inorgánicos contaminantes.

En este trabajo se empleó la descarga de plasma sobre láminas de polietileno de baja densidad (PEBD), como pretratamiento, para favorecer la biotransformación del material por parte del hongo de podredumbre blanca *Pleurotus ostreatus*.

Materiales y métodos: Láminas de PEBD de 3cm<sup>2</sup> fueron expuestas a descargas de plasma de Ar y O<sub>2</sub> bajo diferentes presiones y voltajes. Por medio de un diseño estadístico de bloques independientes, se determinó el mejor tratamiento empleando el ángulo de contacto (AC) como la variable de respuesta más importante. Posteriormente, el material fue expuesto durante 60 días al hongo *P. ostreatus* en medio Radha semisólido, bajo cámara húmeda, e incubando a 21°C. Para ambos tratamientos, se tuvieron en cuenta además del AC, cambios mecánicos determinados por pruebas de tensión, cambios químicos observados por espectroscopia infrarroja transformada por Fourier (FTIR), y cambios en la superficie analizados a través de microscopías de fuerza atómica (MFA) y electrónica de barrido (MEB).

Resultados: El pretratamiento con plasma (6 minutos) de O<sub>2</sub> 100%, a una presión de  $3.0 \times 10^{-2}$  mbar y con un voltaje de 600 V, generó la mayor disminución del ángulo de contacto (21°), demostrando hidrofilia sobre el material y alterando la superficie del PEBD por procesos de ablación (observadas por SEM), facilitando así la colonización del hongo sobre el material. Igualmente, se observó modificación en las propiedades de tensión, disminuyendo el punto de cedencia y aumentando el módulo de Young, volviéndolo más plástico y rígido respectivamente. Finalmente, el pretratamiento con plasma, también generó oxidaciones sobre el LDPE (observadas por FTIR) y mantuvo un ángulo de contacto por debajo de los 50°.

Conclusiones: Este es el primer trabajo que emplea una técnica de descarga de plasma con el fin de facilitar la colonización de un hongo de podredumbre blanca, favoreciendo así la biotransformación de láminas de PEBD.

# **PRESENTACIÓN DE PÓSTER BOMM 2017**

**Caracterización de la microbiota intestinal de un vector principal de malaria en el Pacífico Colombiano alimentado con o sin sangre**

**Piedrahita S; Urrea P; Galeano Y; Bascuñán P; Correa M.**

Universidad de Antioquia, esanpihe16@gmail.com

En las últimas décadas se ha evidenciado un aumento en la resistencia de los mosquitos a insecticidas, lo que hace necesario plantear nuevas estrategias de control vectorial. Se sabe que la microbiota del intestino de algunos mosquitos influye en el ciclo de vida del parásito Plasmodium, causante de la malaria y que está influenciada por el tipo de alimentación de los mosquitos; sin embargo, se desconoce la composición de la microbiota de los vectores presentes en Colombia. Por ello, este trabajo tuvo como objetivo caracterizar la microbiota intestinal de un vector principal de malaria en el Pacífico Colombiano, según la presencia o ausencia de sangre en su intestino al momento de la colecta. Se recolectaron y analizaron mosquitos hembra Anopheles nuneztovari en Istmina (IST), Departamento del Chocó. Se disectó el intestino de los mosquitos, se aislaron las bacterias y se caracterizaron por pruebas fenotípicas. Se extrajo ADN de las colonias, se amplificó y secuenció el gen 16S rRNA. Se asignó el género y/o especie de las bacterias realizando un Megablast de las secuencias, las que además se agruparon por el método de Maximum Likelihood. Se obtuvieron ocho morfotipos, entre los que predominaron los bacilos Gram negativos no fermentadores. Se identificaron los géneros Chryseobacterium spp., Acinetobacter spp., Enterobacter spp., Pantoea spp. y Bacillus spp. La mayoría de las cepas pertenecieron a la clase gammaproteobacteria. En hembras con sangre en el intestino se presentó un menor número de géneros bacterianos, en comparación con las que no tenían sangre. Los resultados de este trabajo mostraron que la ingesta de sangre influencia la microbiota del mosquito.

**Caracterización de la microbiota intestinal de larvas y adultos de *Anopheles albimanus* colectados en una localidad del Pacífico Colombiano**

**Paula U Aguirre, Stefani Piedrahita H, Yadira Galeano C, Priscila Bascuñan, Margarita M. Correa**

Universidad de Antioquia, andrea.urrea@udea.edu.co

Estudios de la microbiota intestinal de mosquitos *Anopheles* realizados principalmente en países de Asia y África, han demostrado que algunas bacterias de su microbiota influyen en el desarrollo del parásito. En Colombia no se han realizado este tipo de estudios, por lo que se desconoce la composición de la microbiota en vectores de nuestro país. Su caracterización podría contribuir a la identificación de bacterias candidatas para el control biológico del vector o inhibición del *Plasmodium*. Por lo tanto, en este trabajo se caracterizó la microbiota bacteriana intestinal de larvas y hembras de *An. albimanus* colectados en la localidad de Bahía Solano, en la Costa Pacífica Colombiana. Los especímenes fueron identificados por PCR-RFLP-ITS2. Se aislaron las bacterias del intestino, se caracterizaron utilizando pruebas fenotípicas y se identificaron usando secuencias del gen 16S-rRNA. Se realizó un agrupamiento por el método de máxima verosimilitud. En ambos estadios predominaron los bacilos Gram positivos móviles, formadores de esporas. En el agrupamiento se discriminaron seis de los siete morfotipos aislados. Se identificaron cuatro géneros bacterianos: *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Lysinibacillus* y *Enterobacter*. Los morfotipos compartidos entre larvas y adultos más abundantes fueron los del Grupo *Bacillus cereus*, *Bacillus* sp. y *Lysinibacillus* spp. Es de notar que algunas especies de estos géneros son usadas para el control de mosquitos y larvas de la familia Culicidae. La ventaja del presente trabajo fue la utilización de técnicas microbiológicas dependientes de cultivo, las que permitieron la obtención de una valiosa colección de aislamientos bacterianos nativos que podrán ser evaluados por su potencial en biocontrol o en otras aplicaciones biotecnológicas

## **Dinámicas microbianas en un campo de producción de algodón con prácticas sostenibles en un ambiente semiárido del occidente de Texas**

**Tovar-Ballen P<sup>1</sup>, Acosta-Martinez V<sup>2</sup>, John Zak<sup>1</sup>**

1. Dept of Biological Science, Texas Tech University. 2. USDA-Agricultural Research Service, Cropping systems research laboratory. pablo.tovar@ttu.edu

La agricultura sostenible tiene efectos positivos sobre las capacidades que tienen las comunidades microbianas en mejorar procesos fundamentales para los suelos. Comprender las dinámicas microbianas en suelos de agricultura sostenible es necesario para abordar los impactos del aumento de la variabilidad del clima. Este estudio describe dinámicas microbianas en un sistema de producción de algodón con prácticas sostenibles en una zona semiárida al sur occidente de las grandes llanuras en Texas, EE.UU. En 2016, 8 parcelas en un campo de algodón fueron aleatoriamente seleccionadas. El campo tenía residuos de maíz y trigo usados como cultivos de rotación y cultivo de cobertura. Muestras de suelo de 15 cm de profundidad fueron colectadas y analizadas mensualmente para evaluar niveles de nutrientes (nitrato, amonio), materia orgánica (OM), biomasa microbiana (MBC), carbono orgánico disuelto (DOC) y estructura de comunidades microbianas. Adicionalmente se usaron registradores de datos para medir temperatura y contenido de agua (VWC) en la superficie y a 15 cm de profundidad. Estos datos fueron colectados desde julio a noviembre, temporada en la que crece y se cosecha el algodón. Se calculó el rango de temperatura diario ( $DTR = T_{max}/día - T_{min}/día$ ), el cual osciló entre 1.05 C y 5.5 C durante la temporada. Los niveles de MBC y DOC tendieron a disminuir en el periodo del estudio. La materia orgánica fluctuó entre 0.8% y 1.5%. Los niveles de nitrato y amonio tendieron a disminuir a través del tiempo. La composición de la comunidad microbiana se mantuvo estable. Hongos saprofitos y micorrizas arbusculares dominaron el sistema con 30% de abundancia relativa. Bacterias Gram +, Gram – y actinomicetos fueron el segundo grupo dominante con el 27%. Mediante un análisis de redundancia se pudo observar que los hongos se ven positivamente afectados por las diferentes variables estudiadas. Asimismo, se observó correlación positiva entre las variables explicatorias (temperatura y VWC) y las variables respuesta (nutrientes, MBC, DOC, OM). Un análisis de escalamiento multidimensional no métrico permitió concluir que el nitrato y el DTR en la superficie y a 15 cm de profundidad son las variables que significativamente ( $P < 0.05$ ) afectan la composición de las comunidades encontradas.

## **Definiendo un Core Genoma para los Herpesvirales y Elucidando su Relación Evolutiva con los Caudovirales**

**Andrade Martínez, J. S., Reyes Muñoz, A.**

Universidad de los Andes (Grupo de Investigación en Biología Computacional y Ecología Microbiana Max Planck Tandem Group in Computational Biology), js.andrade10@uniandes.edu.co

**Antecedentes y Objetivos:** El orden Herpesvirales está compuesto de una gran variedad de patógenos humanos, incluyendo el Virus Varicela-Zóster, el Citomegalovirus Humano y el Virus de Epstein-Barr. A lo largo de las últimas décadas, similitudes en el ciclo viral y la estructura de algunas de sus proteínas con aquellas de los Caudovirales han generado especulación acerca de la existencia de una relación evolutiva entre estos dos órdenes. Sin embargo, la única evidencia de conservación a nivel de secuencia proviene de la subunidad ATPasa de la ADN terminasa. Así las cosas, el objetivo de este proyecto era elucidar la relación evolutiva de estos dos órdenes, así como definir, por primera vez, un Core Genoma para los Herpesvirales.

**Métodos:** Se emplearon más de 700 genomas de Herpesvirales y 2000 de Caudovirales obtenidos de las bases de datos genome y nucleotide de NCBI, que primeramente fueron dereplicados con base en su similitud a nivel de ácidos nucleicos y aminoácidos. Seguidamente, se determinó la presencia o ausencia de secuencias pertenecientes a clústeres de proteínas ortólogas, construyéndose luego un dendrograma con base en los últimos. Las secuencias asociadas a los clústeres abundantes en los genomas de Herpesvirales fueron empleadas para construir un árbol filogenético de todo el taxón.

**Resultados y Conclusiones:** Los resultados obtenidos sugieren que los Herpesvirales en efecto tienen una relación evolutiva con los Caudovirales, y permiten proponer hipótesis acerca de la naturaleza de la misma (en particular, si se trata de clados hermanos o si los primeros derivan de una subdivisión de los segundos). Por su parte, el Core Genoma propuesto para los Herpesvirales, compuesto de 5 proteínas, incluye, como se esperaba, la subunidad ATPasa de la ADN terminasa. Más aun, el árbol construido con secuencias derivadas de los clústeres asociados a las proteínas en cuestión describe con fidelidad la arquitectura general del grupo. En general, este trabajo simultáneamente provee resultados que soportan la hipótesis de una relación evolutiva entre los dos órdenes descritos y contribuye a la comprensión de la historia evolutiva de los Herpesvirales.



## **Identificación de genes lipolíticos en el ADN metagenómico de las bacterias epífitas de macroalgas verdes de la especie *Ulva lactuca***

**Ruiz-Toquica, J.S<sup>1</sup>., Comba-González, N.B<sup>2</sup>., Montoya-Castaño, D<sup>3</sup>.**

1. Estudiante de Maestría en Ciencias – Microbiología, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. E-mail: josruizto@unal.edu.co
2. Aspirante a Doctor en Ciencias – Biología, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. E-mail: natalia.comba@gmail.com
3. Director del grupo de investigación en “Bioprocesos y Bioprospección” y profesor titular de la Universidad Nacional de Colombia. E-mail: dmontoyac@unal.edu.co

Las bacterias epífitas (aquellas que viven asociadas a las superficies de organismos vivos) de macroalgas verdes como *Ulva lactuca*, sintetizan enzimas especializadas útiles para aprovechar los compuestos orgánicos secretados por el hospedero macroalgal. Estas enzimas, especialmente las lipasas (o enzimas lipolíticas), exhiben características y propiedades únicas con aplicaciones industriales y biotecnológicas importantes. Así, existe un reciente interés por buscar y expresar los genes codificantes de estas enzimas; por tanto, el objetivo de este estudio fue identificar genes lipolíticos en el ADN total de las bacterias epífitas de macroalgas de la especie *Ulva lactuca* presentes en el Caribe colombiano. Métodos: Se recolectaron talos algales de *U. lactuca* en el litoral rocoso de “La Punta de la Loma”, en Santa Marta-Colombia. Luego, se estandarizó un método de extracción que permitió la obtención del ADN total bacteriano de la superficie de los talos de dicha macroalga. Por otro lado, se diseñaron y sintetizaron conjuntos de primers específicos y degenerados, los cuales fueron empleados en la identificación de los genes lipolíticos en el ADN total bacteriano por medio de PCR, posterior secuenciación por SANGER y análisis bioinformático. Resultados: Se obtuvo una cantidad considerable de ADN total bacteriano de alto peso molecular, de excelente calidad y amplificable por PCR; el cual sirvió como molde para obtener dos fragmentos de ADN, uno correspondiente a una Tiolasa (75 % de identidad), una enzima involucrada en la degradación y transporte de lípidos; y otro que correspondería a una triacil-glicerol hidrolasa o lipasa verdadera, el cual fue verificado en cepas control productoras de lipasas verdaderas, cuya actividad fue confirmada por la hidrólisis del aceite de Oliva en medio ROA (Rhodamine-Olive Oil-Agar). Conclusiones: Fue posible obtener el ADN total de las comunidades de bacterias en las superficies de talos de *U. lactuca*, y en dicho ADN, identificar fragmentos de ADN que podrían corresponder a genes codificantes de lipasas. De esta manera, los resultados del presente estudio permiten una aproximación a una estrategia para la identificación de genes novedosos en ambientes marinos, y con ello, al entendimiento de las funciones de las comunidades de bacterias epífitas en las superficies de las macroalgas.

## **Diversidad de macromicetos en el área periurbana de Villavicencio**

**Lida Lesmes**

Universidad de los Llanos, lidacarolin@gmail.com

Los macromicetos son organismos que se encuentran en el grupo de los hongos y se caracterizan por presentar (en determinados momentos y bajo ciertas condiciones) cuerpos fructíferos, también llamados setas o carpóforos, cuya función es la de producir esporas. Los macromicetos además de ser degradadores de materia orgánica, como la madera; muestran una alta diversidad de hábitat, formas y tamaños. El objetivo de este estudio es analizar la estructura y composición de macromicetos en el campus de la universidad de los llanos sede Barcelona (área periurbana de la ciudad de Villavicencio - Colombia) teniendo en cuenta la variación temporal de lluvias de la región. Se identificaron los basidiomicetos como los hongos más predominantes dentro del campus, seguidos por los ascomicetos. El orden Agaricales y Polyporales fueron los más abundantes y la familia Polyporaceae presentó una mayor distribución. Se encontró así mismo que el régimen de lluvias influyó significativamente en la diversidad de hongos encontrados. Se espera que los resultados de este trabajo sirvan como fuente de futuros estudios biotecnológicos, ya que varias especies recolectadas tienen posibles aplicaciones industriales además de su uso promisorio para el desarrollo de la Orinoquía colombiana.

**Búsqueda de nuevas unidades transcripcionales y posibles riboswitches en *Deinococcus swuensis* a través de RNA-seq y ensamblaje guiado por genoma bajo condiciones de estrés por irradiación.**

**Díaz-Riaño J. I.** <sup>1,2</sup>, \* **Anzola, J.M.** <sup>1</sup>, **Reyes, A.** <sup>2,3,4</sup>

1. Corpogen Corporation, Bogotá, Colombia, 2. Research Group in Computational Biology and Microbial Ecology, Department of Biological Sciences, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia, 3. MaxPlanck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia, 4. Center for Genome Sciences and Systems Biology, Washington University School of Medicine, Saint Louis, MO, USA. [ji.diaz1@uniandes.edu.co](mailto:ji.diaz1@uniandes.edu.co)

Tecnologías de secuenciación de siguiente generación se han convertido en una herramienta poderosa usada en la obtención de definiciones más precisas de operones, anotación correcta de genes, descubrimiento de nuevos RNAs reguladores y para la identificación de nuevos elementos regulatorios en análisis de transcriptomas con una alta resolución – a nivel de nucleótido-.

Los métodos computacionales para la anotación de genomas tienen limitaciones: predecir los límites de inicio/terminación de los genes y describir regiones no transcritas (como promotores y riboswitches) continúan siendo un reto constante. Los datos transcripcionales obtenidos por evidencia experimental bajo diversas condiciones son una aproximación válida para complementar la anotación computacional.

*Deinococcus swuensis* (DS) es una bacteria tipo coco recientemente descubierta que sobrevive a altos niveles de radiación ultravioleta. Una cepa de DS fue aislada de la filósfera de Espeletia sp, una planta de páramo ampliamente distribuida en dichos ecosistemas en Colombia. Esta cepa fue seleccionada debido a su alta tasa de supervivencia (95%) después de ser sometida a un tratamiento de radiación UV a 600 J/cm<sup>2</sup>. Se extrajo RNA a partir de muestras tratadas con 400 J/cm<sup>2</sup> de radiación UV y controles, ambos por triplicado. Se eliminó el rRNA y se secuenciaron librerías pareadas con un tamaño de inserto de 250 pb con Illumina HiSeq2000.

## **Actividad microbiana en el proceso de biotransformación de residuos sólidos domiciliarios de la ciudad de Tunja, mediante el uso de larvas de escarabajos**

**L.A. Cuellar R<sup>1</sup>, M.P. Díaz P<sup>1</sup>, P.M. Acosta C, G. Viasus T<sup>2</sup>.**

1. Universidad Santo Tomás, seccional Tunja. 2. Empresa Tierra Viva.  
luz.cuellar@usantoto.edu.co

En el manejo de residuos sólidos, actualmente se están utilizando técnicas como la segregación en la fuente, reciclaje, incineración, compostaje y centros recolectores, como alternativas para reducir el volumen de desechos que llegan a los rellenos sanitarios; sin embargo, es necesario la aplicación de políticas e instrumentos económicos para el desarrollo sostenible. Dado lo anterior, existen entidades como Tierra viva, empresa boyacense que ha buscado una solución a la problemática del manejo y disposición final de residuos sólidos urbanos (RSU) producidos en la ciudad de Tunja mediante el uso de larvas de escarabajo, como tecnología alternativas para el proceso de biotransformación de los RSU. Debido a que existe poca documentación del proceso a nivel microbiológico, el objetivo de este trabajo es describir la actividad microbiana en el proceso de biotransformación realizado por las larvas. Como resultado del proceso de Biotransformación se obtiene un producto orgánico (bioabono), que se comercializa en diferentes viveros a nivel regional. MATERIALES Y MÉTODOS. Las muestras se recolectaron en las plazas de mercado de la ciudad de Tunja, posterior a esta recolección se realiza una homogenización de todos los sustratos, posterior a esto se realizó la caracterización microbiológica de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana (NTC 44912). Los microorganismos se caracterizaron mediante morfología microscópica y colonial durante todas las etapas del proceso hasta la obtención del bioabono.

RESULTADOS Dentro de los resultados preliminares, se destaca la presencia de hongos como *Aspergillus fumigatus* y actinomicetos termófilos como *Streptomyces albogriseolus* y *S. thermovulgaris*, es de resaltar que estos organismos presentan una gran capacidad para degradar residuos de plantas y animales como celulosa, quitina y pectina, lo que permite explicar la velocidad en la degradación de estos residuos. CONCLUSIONES. La eficiencia en la degradación de la materia orgánica dentro del proceso de biotransformación, depende de la sinergia existente entre microorganismos y larvas de escarabajo, produciendo una aceleración en el proceso de descomposición del material orgánico. De acuerdo a lo anterior, se concluye que tanto la presencia de los microorganismos mesófilos y termófilos, así como la degradación por parte de las larvas durante todo el proceso, es una solución efectiva, viable y económica en el manejo adecuado de RSU.

## **Producción biotecnológica de xilitol en hidrolizado de cascarilla de cebada suplementado y sin suplementar**

**Díaz-García L., García-Castillo C., Quevedo-Hidalgo B., Gutiérrez-Rojas I.**

Laboratorio de Biotecnología Aplicada, Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI),  
Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana (PUJ),  
Bogotá, D. C., Colombia. [ldiaz.g@javeriana.edu.co](mailto:ldiaz.g@javeriana.edu.co)

El xilitol es un polialcohol con un alto potencial de aplicación en la industria de alimentos y farmacéutica, se estima que el consumo de este producto a nivel mundial en el año 2020 alcance alrededor de 242,000 toneladas. Industrialmente el xilitol se obtiene por vía química, sin embargo, la alternativa biotecnológica representa una alternativa menos costosa y ambientalmente sostenible, además de permitir la valorización de residuos agroindustriales. Por lo mencionado anteriormente, en el presente estudio se evaluó la producción de xilitol con *Candida tropicalis* FTI 20037 sobre un hidrolizado de cascarilla de cebada obtenido netamente por vía biotecnológica sin suplementar y suplementado con xilosa. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo en los siguientes medios: hidrolizado de cascarilla de cebada 3,3 g L<sup>-1</sup> de xilosa (H), hidrolizado suplementado con 7,5 g L<sup>-1</sup> de xilosa para una concentración final de 10 g L<sup>-1</sup> (H10) y en medios sintéticos con concentraciones iniciales de xilosa de 3,3 g L<sup>-1</sup> (S) y 10 g L<sup>-1</sup> (S10). Esto se llevó a cabo empleando un volumen efectivo de trabajo del 40% durante 28 horas a 30°C y 200 rpm. En cuanto a los resultados, se evidenciaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los medios evaluados, así mismo se obtuvo xilitol en todos estos, con una concentración máxima de 4,3 g/L en el medio S10. Sin embargo, los rendimientos de producto a partir de sustrato Y<sub>p/s</sub> más altos, correspondientes a 0,40 g/g y 0,41 g/g, se evidenciaron en el medio H y en el medio S10, respectivamente. Por otro lado, la productividad máxima del medio H (0,06 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) fue mayor a la obtenida en el medio S (0,02 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), mientras que en los medios con una concentración inicial de 10 g L<sup>-1</sup>, se evidenció una productividad máxima mayor en el medio S10 que en el H10, siendo estos valores de 0,19 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y 0,09 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente. En conclusión, los resultados muestran que es posible obtener xilitol a partir de un co-producto como la cascarilla de cebada a través de procesos netamente biotecnológicos, evidenciando una alternativa económica y ambientalmente sostenible para obtener productos de alto valor agregado.

**Línea de investigación en toxinas de microorganismos relacionados con ambientes extremos, del grupo de Investigación en Ciencias Biológicas y químicas de la Universidad Antonio Nariño**

**Yuli Marcela Ballesteros, Angie Milena Barrera, Marcela Castañeda, Silvio Alejandro López-Pazos**

Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño, Carrera 3 Este No 47 A – 15, Bogotá D.C., Colombia.

Los microorganismos extremófilos (MEs) habitan ambientes adversos, son diversos funcionalmente, e incluyen termófilos, psicrófilos, acidófilos, alcalófilos, halófilos, barófilos, metalófilos y radiofilos. Los MEs se han usado en biorremediación, Medicina e Industria. Las enzimas de MEs tienen actividad en actividad baja de agua, solventes orgánicos, diferentes pHs, temperaturas extremas, o altas concentraciones de sales. En Biotecnología agrícola los MEs adaptados a sequía podrían usarse en manejo de agua para cultivos. Los biosurfactantes de MEs pueden sustituir los químicos en formulaciones para biorremediación de suelos. La bacteria *Pasteuria penetrans*, un agente de biocontrol de nemátodos, está relacionada con el alcalófilo *Bacillus halodurans*, un antiguo miembro del grupo *Bacillus*.

Entre las cadenas agrícolas de Colombia está la papa (*Solanum tuberosum*), con producción de ~1800000 tons, en un área de ~170000 ha, donde ~90000 familias la producen. La polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Lepidóptera) ocasiona pérdidas directas del 20% en el cultivo. El manejo del insecto descansa en uso de químicos que causan daño ambiental y de salud

En el Grupo de investigación en Ciencias Biológicas y Químicas de la Universidad Antonio Nariño, línea de toxinas de microorganismos relacionados con ambientes extremos, se busca estudiar el posible potencial de toxinas para diferentes aplicaciones en la agricultura. En este contexto, se buscó secuencias homologas de toxinas insecticidas en genomas microbianos, y el metagenoma ambiental, depositados en el National Center for Biotechnology Information (NCBI). Se encontró secuencias similares a toxinas insecticidas en *Bacillus* sp., *Listeria* sp., *Aeromonas* sp., y *Lactobacillus* sp. entre otros. Se destaca la identificación de una posible toxina insecticida en *Aquifex aeolicus*, un ME termófilo considerado una de las más antiguas especies de bacterias. Posteriormente, se seleccionaron 27 secuencias insecticidas, para ser usadas en búsquedas de contrapartes en genomas de MEs. Se encontró secuencias con similitudes del 43-73% en *Polaromonas* sp., *Natrinema pellirubrum*, *Halomonas xinjiangensis*, *Desulfuromonas* sp., y *Mariprofundus ferrooxydans*. La proteína insecticida candidata de *Polaromonas* sp. fue producida de forma recombinante en *Escherichia coli*, y se determinó la estructura tridimensional in silico. Esta proteína se evaluará en larvas de *T. solanivora* como un aporte a la agricultura colombiana.

## **Generación y caracterización de amastigotes axénicos de *Leishmania (Viannia) panamensis***

**Casadiego, O; Vera, Angelica; García L; Escobar P**

Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales (CINTROP), Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Medicina Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

La *Leishmania* es un parásito dimórfico de formas extracelulares flageladas de promastigotes en el insecto vector y formas no flageladas de amastigotes al interior de las células hospederas. Junto con las formas de amastigotes extracelulares (sin células, axénicos) han podido ser generadas en condiciones de laboratorio con el fin de estudiar aspectos básicos del parásito o como fuente de parásitos en ensayos de evaluación de nuevos fármacos. El objetivo de este trabajo fue generar y caracterizar amastigotes axénicos (AmA) de *L. (V.) panamensis* en cuanto a su morfología, crecimiento, susceptibilidad farmacológica e infectividad. Metodología: Los AmA fueron generados a partir de promastigotes mediante modificaciones en las condiciones de cultivo (pH y temperatura). Se observaron microscópicamente, se contaron y se determinó el porcentaje de transformación y el radio promastigotes/AmA en diferentes tiempos. Se determinó la susceptibilidad a la miltefosina (MIL), paromomicina (PM), pentamidina (PMD) y ketoconazol (KET) mediante el cálculo de la concentración inhibitoria 50 (CI50) y la infectividad en células THP-1 y en ratones BALB/c. Resultados: Se obtuvo un porcentaje de transformación del 95% y un radio promastigotes/AmA del 0,05 para el octavo día de transformación. El crecimiento para ambas formas fue sigmoideo ( $r^2 > 0,99$ ), con una concentración máxima de parásitos de  $7 \times 10^6$  células/mL para AmA y  $29 \times 10^6$  células/mL para promastigotes. Los promastigotes fueron más susceptibles al KET y la PM que los AmA ( $p < 0,05$ ), pero menos susceptibles que los AmA para la MIL ( $p < 0,05$ ). No se observaron diferencias en la susceptibilidad a la PMD. A las 24 horas los promastigotes fueron más infectivos que los AmA en células THP-1, mientras que a las 24 horas ambos porcentajes de infección fueron similares. El tiempo de aparición de la lesión en los ratones fue mayor para los AmA que los promastigotes con un promedio de 70 días versus 50 días respectivamente. Conclusión: Las formas parasitarias de AmA de *L. (V.) panamensis* obtenidas, presentan diferencias en su morfología, crecimiento e infectividad en comparación con los promastigotes, resultando ser un modelo interesante para el estudio de nuevos fármacos antileishmania.

## Evidencia de resistencia antimicrobiana de microorganismos bacterianos asociados a procesos cariogénicos

Verónica Alejandra Jiménez-Ramírez<sup>1</sup>, Zilpa Adriana Sánchez-Quitian<sup>2</sup>, Claudia Marcela Parra-Giraldo<sup>3</sup>, Edisson Chavarro-Mesa<sup>1,4</sup>

1.Laboratorio de Biología Molecular y Bioinformática. Departamento de Biología-Universidad Incca de Colombia-Unincca. Bogotá-Colombia. 2.Departamento de Biología y Microbiología-Universidad de Boyacá. Tunja-Colombia. 3. Unidad de Investigación en Proteómica y Miosis Humanas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá-Colombia. 4. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Tecnológica de Bolívar. Cartagena-Colombia. Email de contacto: echavarrom@gmail.com

La caries dental es una enfermedad principalmente de origen bacteriano y es considerada como un problema de salud pública en Colombia. Es importante conocer los eventos de resistencia/susceptibilidad, durante el desarrollo de la patología, entendiendo el efecto de los antibióticos en esta misma. El objetivo del presente trabajo fue identificar resistencia y/o susceptibilidad para aislamientos de *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus cereus*, obtenidos de piezas dentales con procesos cariogénicos, previamente identificados mediante pruebas MALDI-TOF y PCR. Se tomaron 9, 7 y 4 aislamientos de *S. oralis*, *S. epidermidis* y *B. cereus*, respectivamente, para determinar resistencia y/o susceptibilidad con cuatro antibióticos (amoxicilina, penicilina, clindamicina y estreptomina), de importancia clínica en el tratamiento de la enfermedad. Posteriormente, para el análisis de los datos se utilizó el programa R, realizando las pruebas estadísticas de ANOVA, Scheffé y Fisher. Se determinó que el antibiótico de mayor efectividad fue estreptomina con una diferencia mínima significativa de 0.52, en comparación con penicilina que resultó poco efectivo. Entretanto, hubo variación en la respuesta reflejada en el p-valor, encontrándose diferencias significativas entre microorganismos, tratamientos, antibiótico y el tiempo. Así mismo, la prueba de Fisher permitió determinar, que entre clindamicina y penicilina no hay diferencia estadística, contrario a lo observado para amoxicilina y estreptomina que sí presentaron diferencias estadísticamente significativas. Finalmente, se observó resistencia de *Streptococcus oralis*, que es una de las principales bacterias generadoras de caries dental y otras patologías asociadas a la cavidad bucal, frente al antibiótico amoxicilina, betalactámico de mayor prescripción en el tratamiento de diversas patologías, seguido por los antibióticos penicilina y clindamicina.



**Estudio retrospectivo de caninos y felinos infectados con protozoos y helmintos potencialmente zoonóticos. Universidad de Santander (UDES) Bucaramanga**

**Florez Muñoz AA<sup>1</sup>, MVZ, MSc; Uribe Delgado N<sup>2</sup>, Bact, MSc, PhD.**

1.Grupo de Investigación en Recursos Agropecuarios (GIRA), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Santander (UDES), Bucaramanga, Colombia. 2.Grupo de Investigación en Inmunología y Epidemiología Molecular (GIEM), Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander (UIS), Bucaramanga, Colombia. Ex becario fundación Carolina

Introducción: los parásitos intestinales y tisulares generan enfermedad en mascotas y otros animales domésticos; sin embargo, su real impacto en Salud Pública no ha sido estudiado suficientemente en Colombia. El objetivo del presente trabajo es describir la distribución de protozoos y helmintos identificados en pacientes caninos y felinos. Materiales y Métodos: se realizó un estudio retrospectivo durante el período comprendido 2012-2016. Se revisaron 13 historias clínicas de caninos y felinos atendidos en consulta en la Clínica Veterinaria UDES Bucaramanga, con reporte de protozoos y helmintos mediante técnicas directas coprológicas y frotis de sangre periférica. Los datos recolectados se analizaron con estadística descriptiva usando el programa IBM SPSS® Statistics 21. Resultados: los agentes infecciosos reportados son: Babesia spp. en 6 pacientes (37,5%), Ancylostoma spp. en 4 (25%), Giardia spp. en 3 (18,7%), Endolimax nana en 1 (6,25%), Entamoeba coli en 1 (6,25%), Uncinaria stenocephala en 1 (6,25%). En tres pacientes fueron reportados 2 o más parásitos en las muestras analizadas. Las razas afectadas fueron: Mestizos 3 (23,1%) pacientes, French Poodle 3 (23,1%), Doberman 1(7,7%), Basset Hound 1 (7,7%), Pit bull 1(7,7%), Pug 1 (7,7%), Schnauzer 1 (7,7%), en 2 (15,4%) pacientes no fue reportada la raza. De las especies reportadas, 12 (92,3%) correspondieron a caninos y una (7,7%) a felino. Se observó positividad en 8 machos y 5 hembras. Se reportó 11 pacientes correspondientes a jóvenes, y 2 adultos. Las manifestaciones clínicas fueron: inapetencia reportada en 2 pacientes, decaimiento en 2, vómito en 2, diarrea en 2, diarrea con sangre en 2, diarrea con sangre y moco en 1, mucosas pálidas en 2, hemoglobinuria en 1, convulsiones en 1, y en 3 pacientes no fueron reportados signos y síntomas. En los pacientes fue reportado solo 1 o más signos y síntomas. Conclusiones: en las historias clínicas revisadas se reportaron diferentes agentes infecciosos principalmente gastrointestinales. Algunos de los agentes infecciosos identificados en las muestras analizadas también han sido reportados en seres humanos.

## Perfil toxicológico y actividad anti-Leishmania del trans- $\beta$ -cariofileno en modelos experimentales

Neira, L.F <sup>1</sup>; Hernandez, J.C <sup>2</sup>; Stashenko, E.E <sup>3</sup>, Escobar, P <sup>1\*</sup>;

1. Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales (CINTROP), Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. 2. PAT-UIS, Escuela de Medicina, Departamento de Patología, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. 3. Centro de Investigación en Biomoléculas (CIBIMOL, CENIVAM), Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia  
\*pescobar@uis.edu.co

El sesquiterpeno trans- $\beta$ -cariofileno ( $\beta$ -C) es un componente mayoritario de algunos aceites esenciales obtenidos de plantas del género *Lippia*, *Origanum*, *Cinnamomum* y *Piper*. Es utilizado en la industria de alimentos y cosmética y presenta una amplia actividad biológica y antimicrobiana. El objetivo de este estudio fue evaluar el perfil toxicológico del  $\beta$ -C y su actividad antiparasitaria en diferentes especies de *Leishmania*.

**Materiales y Métodos.** El  $\beta$ -C fue obtenido comercialmente y caracterizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se determinó la irritación en piel (por administración tópica de una y múltiples dosis), la toxicidad aguda (por administración oral de 2000 mg/Kg), la hipersensibilidad de contacto (HC, una dosis sensibilizante/un reto) y la genotoxicidad por el ensayo cometa y micronúcleos (por administración oral de 100 mg/Kg/14 días). La ciclofosfamida y el etilmetanosulfonato fueron utilizados como controles. La actividad antiparasitaria y la citotoxicidad en células THP-1 fue determinada utilizando metodologías estándar calculando las concentraciones inhibitorias (CI50) o citotóxicas (CC50).

**Resultados.** El  $\beta$ -C fue: no irritante a una dosis, pero ligeramente irritante a múltiples dosis (edema, eritema e hiperqueratosis y espongiosis). No presentó toxicidad aguda [sin alteraciones en peso, comportamiento, niveles de urea (34,16 mg/mL) y AST/GOT (76,21 U/L) normales]. No indujo HC (sin aumento en el grosor de las orejas después del reto, ni alteraciones histopatológicas). No indujo daño en el ADN (% de ADN fue de 39,25 vs control 91,25% y la formación de MN fue de 1,25 vs control 200 MN en eritrocitos policromáticos). El  $\beta$ -C fue activo contra promastigotes y amastigotes intracelulares de *L. (V.) panamensis* (IC50 213,94 y 392,61  $\mu$ M), *L. (V.) braziliensis* (IC50 166,08 y 616,58  $\mu$ M) y *L. (L.) infantum* (IC50 406,99 y >489,35  $\mu$ M). La toxicidad en células THP-1 fue de CC50: 2467  $\mu$ M.

**Conclusión.** El  $\beta$ -C mostro actividad antiparasitaria in vitro. El uso de altas concentraciones de  $\beta$ -C mostraron leves signos de irritación. El  $\beta$ -C evaluado en este estudio podría utilizarse de forma segura en el caso de formulaciones farmacológicas.

## **Diversidad del gen ompL1 de cinco especies patógenas de *Leptospira* spp.**

**Beltrán O. G., Patiño R. E., Rodríguez J. L., Caro Q. A.**

Centro de Investigación Agropecuaria CORPOICA sede Tibaitatá

*Leptospira* spp. es una espiroqueta Gram-negativa causante de la leptospirosis, una de las enfermedades zoonóticas más comunes alrededor del mundo caracterizada por afectar diferentes órganos. Este microorganismo es transmitido principalmente por traumas en la piel o la ingesta de agua o alimento contaminado por reservorios animales domésticos y/o silvestres. El gen ompL1 tiene la propiedad de recombinar su secuencia de nucleótidos por transferencia horizontal parcial entre cepas y así diversificar la porina OMPL1, que se expresa en las especies patógenas y se involucrada en la interacción e invasión del tejido del hospedero. Objetivo: Determinar la relación filogenética y genotipos de secuencias del gen ompL1 para diferentes especies de *Leptospira* spp. reportadas en NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Metodología: Se extrajeron, de NCBI 41 secuencias de nucleótidos del gen ompL1 pertenecientes a las especies patógenas: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. weilii*, *L. kirschnerii*, *L. noguchii* y *L. santarosai*; pertenecientes a 34 serovares. Las secuencias fueron alineadas con ClustalW, la filogenia fue reconstruida con el método Neighbor Joining con Bootstrap de 1000 iteraciones con el programa MEGA7. Resultados: El alineamiento de las 41 secuencias mostró divergencias de hasta 31,1% y la reconstrucción filogenética presenta la formación de siete grupos monofiléticos, entre los que se destaca que *L. interrogans* se divide en dos clados, uno de ellos con secuencias endémicas de China donde también se ubican *L. noguchii* sv Pomona st Luo y *L. weilii* sv Manhao II st L105; por otro lado, *L. borgpetersenii* sv Mini st Nan10 se ubica en el grupo formado por secuencias de *L. weilii* procedentes de Asia y un grupo de secuencias de *L. santarosai* reportadas en América. Conclusiones: La convergencia entre ubicación de las secuencias en los grupos monofiléticos y su origen geográfico puede deberse a que los fragmento de secuencias que se recombinan en el gen ompL1 presentan un patrón de distribución local.

## **Bacterias aisladas de ambientes marinos como una opción en el control de agentes fitopatógenos**

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

Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

La producción mundial de alimentos se ve fuertemente afectada por las enfermedades producidas por plagas, dentro de las cuales los mayores responsables de causar estas enfermedades son los microorganismos fitopatógenos (principalmente hongos y bacterias), por lo que el control de estos agentes fitopatógenos se ha vuelto una prioridad. En el mercado existen alternativas para controlar estos fitopatógenos, dentro de las cuales se encuentra el uso de microorganismos, que pueden beneficiar el crecimiento de la planta o controlar el impacto que tiene un fitopatógeno sobre la planta, siendo este último una de las opciones que menos impacto ambiental puede producir. Debido a esto, los estudios dirigidos a la búsqueda de microorganismos y en conocer su producción metabólica han venido incrementando con el fin de encontrar alternativas que puedan disminuir el uso de agentes agroquímicos. En esta búsqueda se han explorado diversos ambientes como lo son los ambientes marinos, los cuales han mostrado ser una fuente de biodiversidad microbiana que puede ser aprovechada en la búsqueda de productos naturales de interés para el hombre. En base a lo planteado anteriormente, este trabajo presenta la evaluación de una colección de aislamientos bacterianos obtenidos del Caribe colombiano frente a los agentes fitopatógenos *F. oxysporum* y *C. gloeosporoides*, con el objetivo de seleccionar bacterias que puedan tener un potencial para producir compuestos que controlen estos fitopatógenos. Para esto, se realizó el inóculo de cada aislamiento por triplicado en 3 mL de medio LB y se crecieron por 5 días. Los cultivos se centrifugaron y se evaluó el sobrenadante libre de bacteria usando la metodología de difusión en placa de agar contra los fitopatógenos. Los resultados mostraron que hay 11 aislamientos bacterianos que presentaron actividad controladora contra estos hongos fitopatógenos. Esta información muestra el potencial biotecnológico que tienen las bacterias aisladas de ambientes marinos como una base para el desarrollo de productos con aplicación en el sector agrícola.

## Estudio de la producción de metabolitos antifúngicos en *Streptomyces* 5.1 por mutagénesis al azar y Rep-PCR

Castañeda Novoa, C. D<sup>1</sup>., Vinchira Villarraga, D. M<sup>2</sup>., García Romero, I. A<sup>2</sup>

1.Universidad INCCA de Colombia, 2.Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia

*Streptomyces* 5.1, es una bacteria aislada de suelos cultivados con arroz, mango y estevia del sur de Tolima. Este microorganismo se caracteriza por presentar actividad biocontroladora frente a los fitopatógenos de plantas de caucho; *Pseudocercospora ulei*, causante del mal suramericano de la hoja (SALB) y *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal de la antracnosis foliar. La actividad antifúngica de 5.1 se ha asociado a la producción de metabolitos secundarios bioactivos; sin embargo, a la fecha se desconoce su identidad, ya que no ha sido posible su purificación e identificación mediante estudios químicos clásicos. En este contexto, el objetivo del presente estudio es identificar preliminarmente genes asociados a la expresión, biosíntesis y/o transporte de los metabolitos antifúngicos producidos por *Streptomyces* 5.1, mediante una aproximación molecular a través de mutagénesis al azar. Para ello, se generó una librería de mutantes, mediante exposición controlada a luz ultravioleta durante 40 minutos. Posteriormente, se evaluó la actividad antifúngica de las mutantes obtenidas empleando el hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides* como biosensor. Una librería de 700 mutantes de *Streptomyces* 5.1 fue clasificada en dos grupos fenotípicos de interés; hiperproductoras (mutantes con halos de inhibición mayor al del Wild type) y nulas (mutantes sin actividad antifúngica). Los cambios genómicos en las mutantes seleccionadas fueron determinados mediante la obtención del perfil genómico de los aislamientos empleando Rep-PCR (ERIC). Las diferencias entre los perfiles genómicos de estas mutantes permitieron evidenciar la ausencia de algunas bandas en las mutantes nulas y la presencia de bandas más gruesas (nulas e hiper-productoras) en comparación a la cepa Wild type. Con base a estos resultados, es posible sugerir que la exposición de *Streptomyces* 5.1 a luz ultravioleta, induce fenómenos de mutación al azar, que se manifiestan a través de diferencias en el metabolismo del microorganismo, los cuales son corroborados en presencia de un biosensor. El análisis molecular de los cambios generados en estas mutantes permitiría obtener información sobre el mecanismo relacionado con la expresión de los metabolitos bioactivos producidos por 5.1. Por ello, futuros ensayos estarán dirigidos a la secuenciación y análisis de las bandas diferenciales obtenidas de los perfiles genómicos evaluados en la presente investigación.

**Actividad antifúngica de bacterias derivadas de ambientes marinos frente a los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Colletotrichum gloeosporioides*.**

**Vinchira-Villarraga DM<sup>1,2</sup>, Ordoñez Ordoñez K<sup>1</sup>, Moreno Sarmiento N<sup>2</sup>, Ramos Rodríguez FA<sup>1</sup>**

1 Grupo de estudio y aprovechamiento de productos naturales marinos y frutas de Colombia, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia. 2 Grupo de Bioprocesos y bioprospección, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia.

*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) y *Colletotrichum gloeosporioides* (Cg) son dos fitopatógenos fúngicos responsables de la marchitez vascular del tomate (*Solanum lycopersicum*) y la antracnosis en tomate de árbol (*Solanum betaceae*). Ambas enfermedades generan pérdidas en producción estimadas del 15 al 80%. La selección de potenciales agentes de control biológico como estrategia de control de estos fitopatógenos se basa en la búsqueda de microorganismos con actividad antifúngica. El objetivo del presente trabajo de investigación fue la selección e identificación de aislamientos bacterianos obtenidos de ambientes marinos con actividad antifúngica frente a ambos fitopatógenos. Para ello un cepario de 152 bacterias aisladas en Santa Catalina y Providencia fueron evaluadas mediante ensayos In vitro (difusión en placa y enfrentamiento directo) para determinar cuáles eran capaces de inhibir el crecimiento de dos aislamientos de Fol y dos aislamientos de Cg. Como resultado de estos ensayos, se obtuvo que 28 y 27 bacterias presentaron actividad frente a los dos aislamientos de Fol y Cg respectivamente. Las bacterias activas fueron clasificadas taxonómicamente mediante secuenciación del gen 16S de ARNr, encontrando que pertenecen a los géneros *Streptomyces*, *Bacillus*, *Brevibacillus* y *Paenibacillus*. De las 51 bacterias activas, los aislamientos 24, 153, 154 y 210, presentaron actividad frente a uno (u ambos) aislamientos de Fol y Cg, fueron aisladas de muestras de manglares, microalgas (*Sargassum* sp.) y macroalgas (*Dyctiota* sp.) y pertenecen al género *Paenibacillus*. Por otra parte, ensayos preliminares de biocontrol en frutos de tomate de árbol con Cg demostraron la capacidad de *Streptomyces* 87 para reducir los síntomas de antracnosis ocasionados por este fitopatógeno hasta en un 60%. Estos resultados sugieren que estas bacterias pueden ser eficientes biocontroladores y proporciona evidencia del potencial biotecnológico de los microorganismos provenientes de fuentes poco estudiadas para aplicaciones agrícolas como el mar. Futuros ensayos están dirigidos a determinar la capacidad de colonización de las bacterias seleccionadas y su actividad en ensayos In vivo. Así mismo, se esperan realizar estudios químicos que contribuyan a identificar los metabolitos antifúngicos asociados a la actividad de las bacterias seleccionadas y contribuir en el desarrollo de un Bioinoculante dirigido al sector agrícola colombiano.

## **Selección y producción de bacterias solubilizadoras de fosfato empleando roca fosfórica como sustrato**

**Blanco Vargas A <sup>1</sup>, Rodríguez Gacha LM <sup>2</sup>, Sánchez N <sup>2</sup>.**

1. Estudiante Ph.D. Laboratorio de Microbiología Ambiental y de Suelos, Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C., Colombia. E-mail: [blancoy@javeriana.edu.co](mailto:blancoy@javeriana.edu.co), 2. Estudiante de Microbiología Industrial. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Javeriana

La mayoría de los suelos son deficientes en fósforo biodisponible, y éste debe integrarse al agroecosistema usando fertilizantes inorgánicos. Estos fertilizantes están diseñados para complementar los nutrientes presentes en el suelo, donde aproximadamente el 70% del fósforo aplicado se convierte rápidamente en complejos insolubles, aumentando los costos para los productores. Algunas bacterias tienen la capacidad de solubilizar el fósforo, haciéndolo disponible e incidiendo positivamente en el rendimiento de las plantas. Este trabajo tuvo como objetivo, seleccionar bacterias Gram negativas con potencial de solubilización de fósforo a partir de cultivos de *Allium cepa* utilizando roca fosfórica como inductor.

**Materiales y métodos:** Se aislaron bacterias fosfato solubilizadoras en agar SMRS1 modificado con roca fosfórica como fuente de fósforo (SMRS-Roca). A las cepas aisladas se les determinó el índice de solubilización, y las cepas promisorias se seleccionaron por comparación de medias entre índices (ANOVA de un factor y Tukey). Las cepas seleccionadas se enfrentaron entre sí para determinar el efecto antagónico entre ellas. Finalmente, se realizaron pruebas preliminares de solubilización en medio líquido a punto final durante 72h empleando SMRS1-Roca como tratamiento y SMRS1 como control; donde se usaron las 4 mejores cepas (T1, T2, T3 y T4) y dos controles (C1 y C2). Las variables de respuesta fueron: producción de biomasa, liberación de orto-fosfatos y consumo de glucosa.

**Resultados:** Los mejores tratamientos fueron T1 y T2 donde se obtuvo aumento de biomasa en medio líquido SMRS1-Roca a razón de 4.1 y 6.2 unidades logarítmicas y 48.2 y 37.5 mgL<sup>-1</sup> de orto-fosfatos. Además, hubo consumo de 5.9 y 6.0 gL<sup>-1</sup> de glucosa en los tratamientos T1 y T2, respectivamente; considerándose una baja concentración y consumo parcial.

**Conclusión:** Teniendo en cuenta que el medio de cultivo fue modificado con una fuente de fósforo de difícil asimilación (roca fosfórica), es importante destacar que las bacterias estudiadas poseen el potencial para solubilizar este compuesto y además requieren baja concentración de glucosa para que se dé la producción de biomasa y liberación de orto-fosfatos. Siendo un hallazgo

prometedor para aumentar la productividad en cultivos con el uso de bacterias solubilizadoras de fosfato.



## Herramientas biotecnológicas: Búsqueda de cultivos iniciadores para fermentación de Cacao en Colombia

**Lina Marcela Botero-Rute<sup>1</sup>, Mauricio Pacheco-Montealegre<sup>1,2</sup>, Lizeth Lorena Davila-Mora<sup>1</sup>, Fernando Rodríguez<sup>1</sup>, María Denis-Lozano<sup>1</sup>, Hugo Rodolfo Jiménez<sup>1</sup>, & Alejandro Caro-Quintero<sup>1</sup>.**

1. Centro de Investigación Agropecuaria CORPOICA sede Tibaitatá, Mosquera. 2. Laboratorio de Biología Computacional y Ecología Microbiana BCEM - Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes, Bogotá

La producción de chocolate de fino aroma está influenciada por el proceso de fermentación. En Colombia la fermentación de cacao se hace de manera artesanal y sin estandarización, generando variación en la calidad de chocolate. Una alternativa tecnológica para mejorar la calidad del Cacao podría ser el desarrollo de cultivos microbianos “starter” que hagan más eficiente el proceso de fermentación. El objetivo del presente trabajo fue identificar mediante métodos microbiológicos y métodos moleculares las poblaciones microbianas fermentadoras dominantes para generar cultivos “starter”, resilientes y capaces de mejorar la calidad del grano de Cacao. Las muestras fueron colectadas en Rivera, Huila; cada 24 horas durante 120 horas de proceso de fermentación; para el aislamiento y purificación de los microorganismos se utilizaron medios específicos, YGC para levaduras, MRS para bacterias ácido lácticas (BAL), GYEC+CaCO<sub>3</sub>, CAAR para bacterias ácido acéticas (BAA) y recuento en placa por diluciones seriadas como método de cuantificación. El gen 16s rRNA fue secuenciado mediante Sanger y la construcción de las librerías por Illumina MiSeq. La abundancia de levaduras y de BAL células microbianas fue determinada en 10 g de semillas la abundancia de levaduras fue constante (9x10<sup>6</sup> UFC/g) a las 24 y 48h y se observó un aumento a las 96 h 6,2x10<sup>7</sup>. Las BAL alcanzaron un pico a las 48 h de 2,5x10<sup>7</sup> y una disminución a las 96 h, 2,1x10<sup>6</sup>. Treinta y tres levaduras, 15 BAL y 5 BAA fueron aisladas y purificadas. Las librerías de 16s rRNA secuenciadas por Illumina MiSeq, mostraron múltiples oligotipos (cepas), transitorios y dominantes durante la fermentación. Para establecer cuáles de los aislamientos pertenecían a uno de estos grupos se realizaron secuenciaciones por Sanger del gen 16s rRNA para los aislamientos de bacterias conservadas. El presente trabajo aporta valiosa información acerca de la dinámica y abundancia de las poblaciones microbianas que dominan el proceso de la fermentación del Cacao, y genera herramientas para la elaboración de un cultivo iniciador que pueda mejorar la calidad del chocolate en Colombia.

## Microorganismos del Caribe Colombiano como fuente de compuestos para el control de fitopatógenos: Explorando la diversidad química en mono y co-cultivos

Martínez Buitrago, P.A.; Ramos Rodríguez, F.A., Castellanos Hernández, L.

Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Química.

Los productos naturales marinos desempeñan un rol importante en el descubrimiento de compuestos bioactivos. Además de sus usos farmacológicos, algunos han mostrado actividades insecticida, antibacterial y antifúngica potentes, lo cual posibilita su uso como agroquímicos. Sin embargo, los productos naturales marinos usualmente no se obtienen en grandes cantidades, por lo que estudios recientes se han enfocado en los microorganismos teniendo en cuenta que éstos son fuente de compuestos bioactivos, al mismo tiempo que son fuente sostenible de los mismos, además de ser la fuente de muchos compuestos inicialmente recuperados de invertebrados marinos.

Avances en la secuenciación del genoma de los microorganismos han demostrado que tienen rutas biosintéticas que no se expresan en condiciones estándares de crecimiento. Para promover la activación de estas rutas, se han desarrollado diferentes métodos que incluyen el co-cultivo de varios microorganismos.

Trabajos previos en nuestro laboratorio han permitido identificar cepas bacterianas de origen marino con actividad inhibitoria del *quorum sensing*, empleando el biosensor *Chromobacterium violaceum* ATCC31532; y con capacidad controladora de las cepas patógenas *Burkholderia glumae*, *B. plantarii* y *B. gladioli* (patógenos del arroz); *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (patógeno clavel) y *Colletotrichum gloesporoides* (patógeno ñame).

En este trabajo, se seleccionaron doce bacterias y un hongo para realizar co-cultivos buscando descubrir o nuevos compuestos bioactivos o incrementar el rendimiento de los producidos en monocultivo. Se emplearon cuatro criterios de selección de los microorganismos: cepas con al menos una de las actividades mencionadas anteriormente, cepas aisladas de la misma muestra de origen marino, bacterias que contengan ácido micólico en su pared celular y bacterias pertenecientes al género *Streptomyces*.

Se hicieron todos los cultivo binarios posibles tanto en medio sólido como líquido. Los ensayos en medio sólido permitieron visualizar cambios fenotípicos inducidos por el cocultivo, mientras los cultivos en medio líquido permitieron recuperar los extractos orgánicos con el fin tanto de evaluar la actividad biológica como de realizar el perfilado metabólico empleando UHPLC-ELSD. Teniendo en cuenta la bioactividad y la información química, se seleccionaron tres co-cultivos para realizar el estudio químico.

El Ministerio de Ambiente y Desarrollo otorgó permiso para la recolección de las muestras y para la realización de esta investigación (Contrato de Acceso a Recurso Genético No. 108).

## La levadura oleoginosa *Meyerozyma guilliermondii* BI281A: selección y perfil lipídico

Ramírez-Castrillón, M.<sup>1,2,3</sup>; Jaramillo-García, J.P.<sup>1</sup>; da Rosa, P.D.<sup>4</sup>; Landell, M.F.<sup>5</sup>; Fabricio, M.F.<sup>6</sup>; Ayub, M.A.Z.<sup>6</sup>; Henriques, J.A.P.<sup>1</sup>; Valente, P.<sup>2</sup>

1.Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil 2.Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. 3.Grupo de investigación en Micología (GIM/CICBA), Universidad Santiago de Cali, Cali, Colombia. 4.Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 5.Setor de Genética/ICBS, Universidade Federal de Alagoas, Maceió – AL, Brasil. E-mail: mauriciogeteg@gmail.com

El aceite microbiano en la producción de biodiesel de tercera generación es una alternativa promisorio para superar el cuello botella de la primera y segunda generación. Cepas de levaduras son consideradas fuente de lípidos, consiguiendo acumular hasta 70% de su peso seco y varios estudios han sido realizados en Brasil buscando cepas novedosas. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue seleccionar una levadura oleaginoso a partir de una colección de levaduras en la Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. Se evaluó el contenido lipídico celular usando una metodología high-throughput, con placas de 96 pozos (fondo negro), y lecturas de fluorescencia con el colorante rojo de Nilo. Fueron utilizadas *Yarrowia lipolytica* QU21 y *Saccharomyces cerevisiae* CBS1171 como controles positivo y negativo, respectivamente. Se realizó determinación gravimétrica y extracción de lípidos totales, trans-esterificación y cromatografía de gases para determinación de su perfil lipídico, utilizando glicerol puro o derivado de la industria de biodiesel (Canoas, RS, Brasil) como fuentes de carbono. A partir de 43 levaduras reactivadas y evaluadas, fue seleccionada la cepa *Meyerozyma guilliermondii* BI281A. La determinación gravimétrica de lípidos totales fue de 52.38% (peso/peso) para glucosa o 34.97% para glicerol puro, confirmándola como cepa oleaginoso. La producción de lípidos obtenida, a partir de la optimización de condiciones de cultivo fue de 108 mg/L de lípidos neutros usando glicerol puro como fuente de carbono. El perfil lipídico fue obtenido a partir de un crecimiento de la cepa durante 5 y 12 días a 26°C y 150rpm, con proporción estequiométrica de 225:1 de C/N (glicerol/sulfato de amonio). Los principales tipos de ésteres de metilo de ácidos grasos (FAME) fueron mono-insaturados, variando de 35 a 73% y ácidos grasos (AG) saturados (21 a 51% relativo a AG totales). El principal AG producido en 5 días fue ácido oleico (C18:1n9cis, 48.76%), que fue convertido completamente a ácido eláidico a los 12 días (C18:1n9trans, 53.70%). Resultados similares fueron obtenidos utilizando glicerol derivado de la industria de biodiesel. Los resultados sugieren que el aceite producido por *M. guilliermondii* BI281A es adecuado para uso como materia prima en la industria de biodiesel.

Apoyo financiero: Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa (CNPq), Departamento Administrativo de Ciencia y Tecnologia (COLCIENCIAS)

## Potencial de degradación de compuestos xenobióticos de las comunidades bacterianas en suelos de manglar mediante secuenciación Illumina del gen 16S ARNr

**Ingrid Figueroa-Galvis<sup>1</sup>, Fabio Aristizabal<sup>2</sup>, Martha Lucía Posada<sup>3</sup>, Alejandra Pérez<sup>4</sup>, Andrea Muñoz<sup>5</sup>, Guillermo Torres<sup>6</sup>, Silvio Alejandro López-Pazos<sup>7</sup>, Orson Mestanza<sup>8</sup>, Javier Vanegas<sup>9</sup>.**

1,2,8 Universidad Nacional de Colombia, Carrera 45, Bogotá Colombia. 7,9 Universidad Antonio Nariño, sede circunvalar, Cra 3 Este No 47 A 15, Bogotá Colombia. 3,4,5 Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Calle 28 #5B-02, Bogotá, Colombia. 6 Institute of Clinical Molecular Biology (IKMB) Schleswig-Holstein Rosalind-Franklin-Straße 12 24105 Kiel, Germany.

Los manglares son bosques costeros salinos que se encuentran en las zonas intermareales proporcionando múltiples beneficios ecológicos, se consideran sumideros de contaminación al ser regiones de producción y transporte de petróleo y otras actividades antropogénicas. Los suelos de manglar albergan comunidades bacterianas con altas actividades metabólicas, las cuales realizan el ciclaje de nutrientes importantes para el ecosistema; asimismo, pueden albergar comunidades degradadoras de compuestos xenobióticos. El objetivo de este trabajo fue determinar el potencial de degradación de xenobióticos de las comunidades bacterianas de manglar mediante técnicas independientes del cultivo de microorganismos en La Guajira, Colombia. A partir de suelo de manglar se realizó la extracción de ADN total y secuenciación del gen 16S ARNr usando la tecnología Illumina MiSeq. Las secuencias fueron analizadas mediante el software Mothur versión 1.36. La predicción del metagenoma in silico se realizó con el software PICRUSt versión 1.0.0 a partir de secuencias 16S ARNr, con el fin de identificar enzimas con potencial biotecnológico. Un total de 1'122.570 secuencias crudas fueron obtenidas a partir de nueve muestras, y un total de 56.449 OTUs teniendo en cuenta un 97% de similitud. Los principales grupos identificados a nivel de phylum fueron Proteobacteria (37,6-45,2%), Actinobacteria (4,1-14,98%) y Bacteroidetes (3,3-12,2%). Los grupos menos representados fueron Nitrospirae (0,1-4,5%), Chlamydiae (0,5-1,7%), Candidate division (0,1-1,0%). El metagenoma predicho permitió identificar las siguientes enzimas relacionadas a degradación de xenobióticos: dehalogenasa haloalcano [EC:3.8.1.5] (13,7% respecto al total de enzimas degradadoras de xenobióticos), catecol 2,3-dioxigenasa [EC:1.13.11.2] (8,7%), salicilato hidroxilasa [EC:1.14.13.1] (6,5%) y fenol 2-monooxigenasa [EC:1.14.13.7] (3,6%), entre otras. Algunas enzimas menos representadas fueron: naftaleno 1,2-dioxigenasa [EC:1.14.12.12] (0,3%), benceno 1,2-dioxigenasa [EC:1.14.12.13] (0,1%) y azobenceno reductasa [EC:1.7.1.6] (0,1%). La actividad de dehalogenación bacteriana ha sido estudiada para el tratamiento biológico de ambientes contaminados con organohalógenos; además, la degradación de compuestos aromáticos, también supone una alternativa de biorremediación frente a derrames con petróleo. Este es el primer estudio de las comunidades bacterianas en suelos de manglar colombianos mediante técnicas de secuenciación de ADN. Los resultados indicaron una alta

diversidad bacteriana presente en suelos de manglar y el metagenoma predicho presentó un alto potencial de actividad de degradación de xenobióticos.

**Remoción de grasas y aceites en aguas residuales: estudio comparativo de coagulantes químicos, Moringa oleifera y caracterización de una comunidad microbiana con actividad lipolítica**

**Nury Gineth Infante González<sup>1\*</sup>, Diana Marcela Paredes Céspedes<sup>2\*\*</sup>, Cristobal Aldama Aguilera<sup>1</sup>, Nahúm Andrés Medellín<sup>1</sup> y Jordí Morató<sup>3</sup>**

\*nuryinfante@gmail.com \*\*dianis-246@hotmail.com

1 Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava # 8, Zona Universitaria poniente, C.P. 78290, San Luis Potosí, S.L.P, México. 2 Facultad Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit, Av. De la Cultura S/N, laboratorio de contaminación y toxicología ambiental, C.P. 63000, Tepic, Nayarit, México. 3 UNESCO Chair on Sustainability and Health and Environmental Microbiology Laboratory, Universitat Politècnica de Catalunya-BarcelonaTech, Edifici Gaia, Pg. Ernest Lluch/Rambla Sant Nebridi, Terrassa, 08222, SPAIN (jordi.morató@upc.edu).

La contaminación del agua por varios tipos de aceites continúa siendo un problema específico y serio en el sector salud, ambiental y social; es por ello que se requieren el desarrollo de investigaciones y nuevas técnicas para la remoción de estos contaminantes. El presente estudio evaluó la remoción de grasas y aceites (G&A) en dos plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) mediante procesos de coagulación-floculación; además se identificó y caracterizó una comunidad microbiana endógena con actividad lipolítica. Materiales y métodos: El proceso de coagulación-floculación se realizó mediante la prueba de jarras con el efluente del tratamiento primario de las PTAR utilizando 3 coagulantes químicos (cloruro férrico, sulfato de aluminio y cloruro de polialuminio) y un coagulante natural (Moringa oleifera) con presencia/ausencia de floculantes (PAM aniónico y PAM catiónico). Las bacterias lipolíticas fueron aisladas y caracterizadas por 98 pruebas bioquímicas utilizando el kit Biolog MicroStation GEN III. Posteriormente se realizó la amplificación del ADN por PCR en tiempo real y secuenciación para la identificación de las cepas. Por último, se determinó la actividad lipolítica utilizando acetato y laurato de p-nitrofenilo. Resultados: se evidenció que el cloruro férrico y cloruro de polialuminio fueron los coagulantes químicos que presentaron mayores porcentajes de remoción de turbidez (93 y 98% respectivamente); mientras sulfato de aluminio y Moringa oleifera obtuvieron porcentajes de remoción de G&A por encima de 90% con ausencia de los floculantes. Por otra parte, se obtuvo un aislamiento de 8 cepas con actividad lipolítica (halo de hidrolisis mayor a 5 cm de diámetro) y se determinó que los géneros Proteus, Pectobacterium y Pseudomonas presentaron mayor actividad lipolítica con valores de 50.96, 88.25 y 83.87 unidades lipolíticas (UL), respectivamente para el acetato de p-nitrofenilo. Conclusión: las semillas de Moringa oleifera son una alternativa como coagulante natural para sustituir a los coagulantes químicos ya que presentó el mayor rendimiento en el porcentaje de remoción de G&A; así mismo, se evidenció que los influentes de aguas residuales son una gran fuente de microorganismos con potencial para



remoción de diversos contaminantes como G&A que en condiciones favorables pueden presentar una eficiente remediación a nivel ambiental.

## **Comportamiento de un reactor tipo air-lift como selector a diferentes pH del sustrato en el proceso de producción de PHA**

**Arango, J.A., Luna, H.J., Martínez, A.J., Valderrama, J.D.**

Universidad Antonio Nariño

La producción de PHA a nivel industrial actualmente no es competitivo, debido a que su producción es por cultivo puro, generando un incremento de costos debido a la esterilización, como alternativa se utilizan los consorcios microbianos. Este proceso de producción de PHA consta de tres etapas: producción de ácidos grasos volátiles (AGV), selección de biomasa con capacidad de almacenar PHA utilizando los AGV generados en la primera etapa e implementando una dinámica de abundancia y hambruna y la última es la etapa de acumulación, la cual utiliza la biomasa seleccionada en la segunda etapa y como fuente de carbono los AGV de la primera etapa, el objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento de un reactor tipo air-lift como selector a diferentes pH del sustrato.

Los reactores Air-lift fueron diseñados y construidos con materiales de bajo costo en tubos concéntricos de polietileno. El volumen de trabajo fue de 1600 mL y mantenidos a temperatura ambiente. Los reactores S1 (pH 6,5), S2 (pH 8,0), S3 (sin control) fueron inoculados con lodo de la industria láctea y alimentados con AGV producidos a escala de laboratorio, operaron de forma secuencial donde cada ciclo constaba de 4 etapas: llenado, aireación, sedimentación y vaciado. Se evaluaron los parámetros de AGV por titulación, la DQO y el oxígeno disuelto, los reactores S1 S2 y S3 se realizaron 3 monitoreos en los días de operación 13, 32, 39 con el fin de observar las diferencias en el comportamiento.

Los resultados mostraron un comportamiento similar para el parámetro del oxígeno disuelto para los 3 reactores, el reactor S2 tuvo un mayor consumo de DQO como no AGV por el contrario de S3 que tuvo un menor consumo, en general los 3 reactores tuvieron un consumo de concentración de AGV similar, el reactor S2 tuvo un mayor tiempo de consumo de AGV y el tiempo de S1 y S2 fue cercano. Estos resultados muestran que el pH del sustrato no ejerce una alta influencia, pero muestran que la DQO remanente en el sustrato puede llegar a afectar el proceso como se muestra en la variable de DQO no AGV.

## **Análisis de expresión génica durante el proceso de fermentación de cacao: primera aproximación**

**Laura Avellaneda<sup>1</sup>, Jorge Ivan Díaz<sup>1</sup>, Lizeth Lorena Davila-Mora<sup>2</sup>, Lina Marcela Botero-Rute<sup>2</sup> & Alejandro Caro-Quintero<sup>2</sup>.**

1. Laboratorio de Biología Computacional y Ecología Microbiana BCEM - Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de Los Andes, Bogotá. 2. Coporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, C.I Tibaitatá, Mosquera-Cundinamarca.

Con el fin de aumentar la competitividad del cacao colombiano en mercados internacionales se hace necesario mejorar la calidad del mismo, dada por su sabor y aroma. La fermentación del cacao es un proceso en donde intervienen varios microorganismos que favorecen la producción de moléculas precursoras que determinarán la calidad del producto final. Sin embargo, hay pocos estudios que permitan entender los mecanismos moleculares asociados a los microorganismos y las semillas. Por tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar el metatranscriptoma de las semillas y su testa a las 24h de fermentación, de granos recolectados en el municipio de Rivera, Huila.

Inicialmente se realizó la extracción de ARN del embrión y la testa de semillas, se realizaron librerías pareadas y se secuenciaron empleando MiSeq. Las lecturas obtenidas se limpiaron con Trimmomatic y su calidad fue evaluada mediante FastQC. Las lecturas limpias fueron mapeadas al genoma de *Theobroma cacao* Criollo empleando HISAT y TopHat. Posteriormente, las lecturas que no mapearon fueron buscadas en la base de datos no redundante de proteínas en NCBI empleando blastx, con estos resultados se realizó una anotación funcional y taxonómica usando Blast2GO y MEGAN6.

Se obtuvieron 206.928 y 341.678 lecturas pareadas del embrión y la testa, respectivamente. De las cuales, el 84 y el 6% mapearon contra el genoma de referencia. Las lecturas mapeadas están asociadas a la ruta de los terpenoides y los flavonoides y se encontró una sobrerrepresentación de metalotioneína tipo 2. Dentro de las lecturas no mapeadas de la testa se observó principalmente Enterobacterales, específicamente de la familia Erwiniaceae y Morganellaceae, y Saccharomycetales, mientras que en el embrión prevalecieron lecturas asociadas al orden Malvales, lo que sugiere que el genoma de referencia empleado no contiene genes presentes en las variedades empleadas en este estudio. Finalmente, en ambas librerías los términos ontológicos más frecuentes fueron: procesos metabólicos y celulares, unión, actividad catalítica, célula, organelo y membrana.

Los hallazgos realizados en este estudio representan una primera aproximación para entender los mecanismos moleculares que ocurren a las 24 horas de la fermentación, los cuales pueden ser posteriormente usados para definir estrategias que permitan mejorar la calidad del cacao.

## **Graficando genoma en 2D, aplicaciones de la estadística multivariada en la composición genómica**

**Martínez Villa María Camila**

Universidad de los Andes

Dado que los avances en la tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS), el volumen de información biológica (ej. genomas, transcriptomas y metagenomas) han aumentado exponencialmente. Por lo cual, la nueva limitación es el desarrollo de estrategias para analizar los datos genómicos de manera eficaz, donde la adición de componentes visuales sería muy ventajoso para las capacidades visuales humanas. A continuación, la posibilidad de utilizar variables de composición genómica (frecuencia y sesgos de tetranucleotidos) para crear una imagen en 2D de un genoma, en la que sea posible diferenciar características intra- e inter-genómicas, haciendo la comparación entre genomas más sencilla. Adicionalmente, se generó una función de R que toma un genoma, lo fragmenta en segmentos de 6,000pb con solapamiento del 10%, crea un píxel de cada fragmento y traza los píxeles como una curva de Hilbert, lo cual permite comparar imágenes de genomas procariontes y eucariotes. Los primeros resultados de esta tesis permiten ver que las imágenes 2D de genomas bacterianos estrechamente relacionados tienen un patrón de coloración similar sugiriendo su proximidad filogenética y el potencial de esta herramienta para una clasificación filogenética incluso en organismos de genomas más complejos.

**Evaluación de la actividad antibacteriana de las secreciones producidas por la piel de la rana  
*Hypsiboas crepitans* en simbiosis con su microbiota nativa**

**Casas Vargas Juan Camilo**

Universidad de los Andes

En las últimas décadas se ha visto un incremento de cepas bacterianas multi-resistentes a antibióticos. Esto ha generado altas tasas de mortalidad. Además, el descubrimiento de nuevos antibióticos para contrarrestar este problema ha disminuido, lo cual deriva en la necesidad de buscar nuevos antimicrobianos que contrarresten esta problemática. Una potencial fuente son los Péptidos Antimicrobianos (AMPs) encontrados en anfibios, como la especie *Hypsiboas crepitans* donde se ha comprobado el efecto inhibitorio de sus secreciones frente a patógenos. Adicionalmente, se ha demostrado que bacterias simbiotas asociadas a la piel de rana presentan esta actividad. A pesar de esto, no existen ensayos en los cuales se evalúe la actividad de inhibición que resulta de la interacción entre la piel de la rana y su microbiota nativa. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de la simbiosis entre la piel de la rana *H. crepitans* con su microbiota nativa. Se capturaron ocho especímenes a los cuales se les realizó una identificación de las bacterias nativas de la piel. Paralelamente, la piel de cada espécimen fue cultivada por la técnica de Micro-órganos para obtener medios condicionados (MCs). A partir de estos se realizaron ensayos antimicrobianos contra las bacterias patógenas *Staphylococcus aureus* ATCC, *S. aureus* 55, *Pseudomonas aeruginosa* 01 y *P. aeruginosa* M18. Como resultado de la identificación, principalmente se encontraron bacterias de las familias *Pseudomonadaceae* y *Xanthomonadaceae*. Con respecto a la actividad antibacteriana, se observó que la mayoría de MCs presentó actividad frente a todos los patógenos en los ensayos con y sin microbiota nativa. Además, los MCs de los individuos 1 y 2 inhibieron el 100% del crecimiento de *S. aureus* ATCC, pero el individuo 1 en el ensayo con microbiota lo inhibió a menor concentración que sin microbiota. En conclusión, las secreciones obtenidas del cultivo de piel con y sin bacterias nativas mostraron actividad inhibitoria frente a los patógenos, sin embargo, es de resaltar que en uno de los MCs evaluados la actividad fue mayor con microbiota nativa que sin ella, demostrando así que esta interacción es una fuente de antimicrobianos que podría ser explorada en otros modelos.

**Caracterización de la microbiota intestinal de larvas y adultos de *Anopheles albimanus* colectados en una localidad del Pacífico Colombiano**

**Paula U Aguirre, Stefani Piedrahita H, Yadira Galeano C, Priscila Bascuñan, Margarita M. Correa**

Universidad de Antioquia

Estudios de la microbiota intestinal de mosquitos *Anopheles* realizados principalmente en países de Asia y África, han demostrado que algunas bacterias de su microbiota influyen en el desarrollo del parásito. En Colombia no se han realizado este tipo de estudios, por lo que se desconoce la composición de la microbiota en vectores de nuestro país. Su caracterización podría contribuir a la identificación de bacterias candidatas para el control biológico del vector o inhibición del *Plasmodium*. Por lo tanto, en este trabajo se caracterizó la microbiota bacteriana intestinal de larvas y hembras de *An. albimanus* colectados en la localidad de Bahía Solano, en la Costa Pacífica Colombiana. Los especímenes fueron identificados por PCR-RFLP-ITS2. Se aislaron las bacterias del intestino, se caracterizaron utilizando pruebas fenotípicas y se identificaron usando secuencias del gen 16S-rRNA. Se realizó un agrupamiento por el método de máxima verosimilitud. En ambos estadios predominaron los bacilos Gram positivos móviles, formadores de esporas. En el agrupamiento se discriminaron seis de los siete morfotipos aislados. Se identificaron cuatro géneros bacterianos: *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Lysinibacillus* y *Enterobacter*. Los morfotipos compartidos entre larvas y adultos más abundantes fueron los del Grupo *Bacillus cereus*, *Bacillus* sp. y *Lysinibacillus* spp. Es de notar que algunas especies de estos géneros son usadas para el control de mosquitos y larvas de la familia *Culicidae*. La ventaja del presente trabajo fue la utilización de técnicas microbiológicas dependientes de cultivo, las que permitieron la obtención de una valiosa colección de aislamientos bacterianos nativos que podrán ser evaluados por su potencial en biocontrol o en otras aplicaciones biotecnológicas.

## Identificación de microorganismos halófilos y halotolerantes con actividad antimicrobiana y citotóxica

**Angela Cantillo<sup>1,2</sup>, Carolina Díaz-Cárdenas<sup>3</sup>, Laura Yinneth Rojas<sup>4</sup>, Tito Sandoval<sup>4</sup>, Susana Fiorentino<sup>4</sup>, Jorge Robles<sup>5</sup>, Sandra Baena<sup>3</sup>, María Mercedes Zambrano<sup>1</sup>**

1. Corporación Corpogen. Bogotá DC, Colombia. 2 Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. 3. Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental, Departamento de Biología, Pontificia Universidad Javeriana, POB 56710, Bogotá DC, Colombia. 4. Grupo de Inmunobiología y Unidad de Investigación en Ciencias Biomédicas. Pontificia Universidad Javeriana, POB 56710, Bogotá DC, Colombia. 5. Grupo de Investigación Fitoquímica, Pontificia Universidad Javeriana, POB 56710, Bogotá DC, Colombia.

Microorganismos de ambientes extremos, como minas de sal, tienen diverso potencial metabólico que podría ser de interés para el desarrollo biotecnológico. En Colombia, la bioprospección de productos microbianos relevantes para la industria es todavía incipiente y se sabe poco sobre microorganismos aislados de ambientes salinos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad citotóxica y antimicrobiana de microorganismos halófilos y halotolerantes obtenidos de minas de sal en Colombia e identificar las moléculas relacionadas a la actividad citotóxica. Un total de 92 microorganismos fueron aislados de sedimentos y rocas de la mina de sal de Colsaminas. Una vez cultivadas en medio TSB suplementado con diferentes concentraciones de NaCl a 30°C, se logró identificar que 49% de los aislamientos eran halófilos moderados y el resto halotolerantes. La clasificación taxonómica, realizada mediante análisis de la secuencia de 16S rADN, mostró que las cepas pertenecían a diferentes géneros, 56% de estos eran *Firmicutes* y el resto pertenecían al filum *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*. Para evaluar la actividad antimicrobiana, se ensayaron 48 microorganismos, mediante la técnica de difusión en agar usando el sobrenadante, las células y extractos de cloroformo y acetato de etilo obtenidos a partir de la fracción extracelular. Los extractos también fueron evaluados para citotoxicidad usando la técnica de rojo neutro contra dos líneas celulares, 4T1 y MCF-7. Dieciocho cepas mostraron actividad citotóxica contra ambas líneas celulares, cinco contra 4T1 y dos contra MCF-7. Adicionalmente, 17 cepas mostraron actividad antimicrobiana. Las cepas 22, 42 y 63 pertenecientes al género *Bacillus* tuvieron actividad contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. Estos resultados muestran que microorganismos halófilos y halotolerantes son potenciales productores de compuestos bioactivos en este caso, metabolitos con actividad antimicrobiana y citotóxica



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

**Hernández R<sup>1,2</sup>, Jiménez H<sup>2</sup>, Caro-Quintero A<sup>2</sup>, Reyes A<sup>1</sup>.**

1 Laboratorio de Biología Computacional y Ecología Microbiana BCEM, Universidad de los Andes. 2 Corpoica, Sede Tibaitatá.

Los procesos de transformación del material vegetal por parte de los microorganismos en el rumen son indispensables para el metabolismo del rumiante. Para el mejoramiento y manipulación de estos procesos es necesario conocer la estructura de la comunidad microbiana que participa en ellos. Las técnicas moleculares de última generación han contribuido enormemente en este objetivo, sin embargo, existen limitaciones en las metodologías tradicionales, particularmente, al momento de extraer ADN de una muestra homogenizada de la comunidad; la cual no permite hacer un censo real y discriminatorio de la diversidad de microorganismos en distintas abundancias, tamaños y especialidades funcionales. Se desarrolló una metodología que permita recuperar una mayor variedad de grupos taxonómicos de interés con mayor resolución que los métodos tradicionales. El fraccionamiento por tamaño celular previo a la extracción del ADN es una alternativa que permite el estudio de la diversidad de los microorganismos. Se construyó un gradiente con base en soluciones de sacarosa a diferentes concentraciones (5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% y 70%), al cual se añadió fluido ruminal proveniente de una vaca de la raza Holstein. A cada una de las fracciones del gradiente o soluciones de sacarosa se le extrajo ADN genómico y se amplificó el gen 16S rARN de bacterias. Se prepararon librerías "Pair-end" para la región V4 gen 16S rARN que se secuenciaron utilizando la tecnología Illumina MiSeq obteniendo de 10000 a 40000 lecturas para cada una de las fracciones. Se encontraron 17 unidades taxonómicas operacionales (UTOs) en total, la mayoría de estos, pertenecen a familias de Firmicutes, Prevotellaceae y Acoelplasmataceae. En las fracciones que se encuentran en los extremos del gradiente (5% y 70%) se encontraron UTOs que fueron identificados como bacterias y no tienen una asignación taxonómica a phylum. Se observó el enriquecimiento de algunos taxones en determinadas fracciones del gradiente como es el caso de Firmicutes, Acoelplasmataceae, Ruminococcaceae y Prevotellaceae. Actualmente se evalúa la reproducibilidad de esta técnica, en tres vacas hembras de la raza criolla colombiana BON. La metodología por gradiente permite secuenciar un mayor número de UTOs en comparación con una muestra total y no separada, obteniendo una visión más precisa de la comunidad y su rol.

## **Prediciendo el potencial metabólico en el microbioma intestinal del Oso Andino: Implicaciones para manejo en cautiverio**

**Andrea Borbón<sup>1,2</sup>, Martha Vives<sup>3</sup>, Susana Caballero<sup>4</sup>, Alejandro Reyes<sup>1,2,5</sup>**

1. Grupo de Investigación en Biología Computacional y Ecología Microbiana, Universidad de los Andes, Colombia. 2. Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes, Colombia. 3. Centro de Investigaciones Microbiológicas, Universidad de los Andes, Colombia. 4. Laboratorio de Ecología Molecular de Vertebrados Acuáticos, Universidad de los Andes, Colombia. 5. Center for Genome Sciences and Systems Biology, Washington University School of Medicine, Saint Louis, MO, USA

El Oso Andino es una especie endémica de los Andes tropicales y emblemática de la biodiversidad colombiana. Sin embargo, enfrenta múltiples amenazas a su conservación a largo plazo. Estas amenazas se relacionan principalmente con la degradación de su hábitat y la caza ilegal como retaliación por predación de ganado, a pesar de que la especie tiene hábitos predominantemente herbívoros. El objetivo de este estudio es describir las diferencias en composición y capacidades metabólicas predichas del microbioma intestinal de osos andinos cautivos y silvestres, con el fin de explicar cambios funcionales que puedan estar asociados a la tenencia en cautiverio de individuos de esta especie.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Se realizaron análisis de composición y diversidad a partir de librerías de amplicones de la región V4 del gen 16S del ADNr obtenidas de muestras fecales de osos silvestres (n=5) y en cautiverio (n=8) y secuenciadas en la plataforma Ion PGM. Posteriormente, se usó el algoritmo PICRUSt para predecir el contenido y abundancia de genes en el microbioma intestinal de estos individuos.

**RESULTADOS:** Se identificaron 5411 y 838 OTUs para individuos silvestres y en cautiverio, respectivamente. Se observó una pérdida de diversidad de filotipos para los individuos de cautiverio y algunos grupos de bacterias, productores de glicosil hidrolasas -enzimas relacionadas con herbivoría- fueron detectados en individuos silvestres pero no en cautivos. Las predicciones realizadas con PICRUSt sugieren que en individuos silvestres el número de genes asociados al metabolismo de diferentes biomoléculas es significativamente mayor en individuos silvestres ( $p < 0.05$ , t-test de Welch). Además, en individuos silvestres existe mayor abundancia de genes para el metabolismo y biodegradación de xenobióticos, que puede estar asociado con la presencia de moléculas relacionadas a mecanismos de defensa en plantas, comunes en la dieta de osos silvestres.

**CONCLUSIONES:** El cautiverio reduce la heterogeneidad y complejidad de recursos y nutrientes disponibles para el individuo, lo que probablemente se relaciona con la pérdida de diversidad taxonómica y funcional de su microbiota intestinal. Adicionalmente, esta condición puede estar

relacionada con pérdida de funciones para la detoxificación de xenobióticos presentes en una dieta rica en plantas, consideración importante para la reintroducción de individuos cautivos.

## **Efectos antrópicos sobre comunidades microbianas acuáticas y marcadores de resistencia a antibióticos**

**C. E. Posada<sup>1, 2</sup>, A. A. Ramírez<sup>4</sup>, B. Adu-Oppong<sup>3</sup>, J. M. Anzola<sup>4</sup>, G. Dantas<sup>3</sup>, L. Díaz<sup>5</sup>, M. M. Zambrano<sup>4</sup>, & A. Reyes<sup>1, 2, 3</sup>**

1. Grupo de Biología Computacional y Ecología Microbiana, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, D. C., Colombia. 2. Grupo Tándem Max Planck de Biología Computacional, Universidad de los Andes, Bogotá, D. C., Colombia. 3. Center for Genome Sciences and Systems Biology, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO, Estados Unidos 4. Corporación CorpoGen, Bogotá, D. C., Colombia. 5. Unidad de Genética Molecular y Resistencia Antimicrobiana, Centro Internacional de Genómica Microbiana, Universidad El Bosque, Bogotá, D. C., Colombia

Los antibióticos han sido ampliamente usados para tratar enfermedades infecciosas y son considerados uno de los grandes logros de la medicina moderna. Sin embargo, su uso excesivo e indiscriminado ha resultado en la aparición y diseminación de bacterias resistentes en hospitales y en el ambiente, las cuales representan una amenaza para la salud humana y animal. Por tal motivo, es importante evaluar el alcance de la diseminación de genes de resistencia a antibióticos en diferentes ambientes debido al uso clínico de antibióticos. En este trabajo caracterizamos las comunidades microbianas y la diversidad y abundancia de genes de resistencia en muestras aguas ambientales obtenidas en Bogotá, Colombia.

**Materiales y métodos.** Muestras de agua fueron tomadas en 2015 y 2016 de tres ubicaciones en el Río Bogotá con diferentes niveles de intervención antrópica (el nacimiento, una sección media y una sección baja) y del desagüe de aguas residuales de tres hospitales en la ciudad de Bogotá. Secuenciamos el gen del ARNr 16S para caracterizar las comunidades microbianas y los metagenomas totales para catalogar los genes de resistencia y compararlos entre sitios.

**Resultados.** Los análisis computacionales de las secuencias del gen del ARNr 16S revelaron una baja diversidad de bacterias en hospitales y aguas del río que reciben niveles elevados de contaminantes urbanos, y una fuerte similitud en la composición de las comunidades entre las muestras hospitalarias. El análisis de las secuencias metagenómicas mostró una mayor abundancia de genes de resistencia en aguas hospitalarias y de la sección baja del río cuando se compararon con aguas del nacimiento y la sección media.

**Conclusiones.** La reducción observada en diversidad bacteriana y el aumento de la abundancia de genes de resistencia en la sección contaminada del Río Bogotá sugieren un impacto humano previamente ignorado sobre fuentes de agua que son usadas para actividades que podrían afectar

la salud humana o animal, como la agricultura. Estos resultados proveen información importante para el diseño de política pública relacionada con la salud pública y el medio ambiente.

Financiado por: Colciencias, proyecto No. 657065741359

## **Efecto de la acumulación de cadmio sobre el microbioma asociado a las hojas de Theobroma cacao**

**Avellaneda-Franco L<sup>1,2,3</sup>, Dávila L<sup>1</sup>, Botero, L<sup>1</sup> Díaz-Riaño J<sup>2</sup>, Reyes Muñoz A<sup>2,3</sup>, Yockteng R<sup>1</sup> & Caro-Quintero A<sup>1</sup>.**

1 Corporación colombiana de investigación agropecuaria, CORPOICA, Km. 14 vía Bogotá, Mosquera, Colombia. 2 Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes, Bogotá D.C., Colombia. 3 Research group of Biología computacional y ecología microbiana, BCEM. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá D.C., Colombia.

La absorción de cadmio por las plantas es un problema tanto para la salud humana como para el rendimiento del cultivo, el cual está influenciado directamente por los microorganismos asociados a las plantas. A la fecha no hay estudios que reporten la composición taxonómica de los microorganismos asociados al cacao y del efecto del cadmio sobre esta, por tanto, nuestro objetivo fue comparar los microbiomas de hojas de plantas de cacao suplementadas con y sin cadmio.

**Materiales y métodos:** Durante un mes, 9 plántulas del genotipo ICS6 fueron crecidas en un sistema de “raíz flotante” y suplementadas con una solución de Hoagland con nutrientes menores. La última semana, la solución de Hoagland con la que se alimentó la mitad de las plántulas fue suplementada con 10ppm de cadmio. Se extrajo el ARN de las plantas suministradas con cadmio y el control, y se realizaron dos librerías pareadas que fueron secuenciadas usando MiSeq(Illumina). Las lecturas de buena calidad, que no mapearon contra el genoma de Theobroma cacao variedad Criollo, fueron agrupadas al 97% de identidad usando CD-HIT-EST y comparadas contra la base de datos de proteínas no redundante de NCBI (blastx). Estos resultados fueron usados para generar curvas de rarefacción, asignar un taxa a cada lectura y calcular índices de  $\alpha$ -diversidad (MEGAN6).

**Resultados:** Se encontró una saturación en las curvas de rarefacción de las dos muestras, lo que señala que las lecturas secuenciadas son suficientes para caracterizar el microbioma de la filósfera. Además, en las curvas de rarefacción y en los índices de Shannon y Simpson se evidenció que hay una mayor diversidad microbiana en el control. En las plántulas tratadas con cadmio se encontró un mayor número de lecturas asociadas a Ascomycota y Firmicutes, y menor número de Basidiomycota, Mucoromycota, Proteobacteria, Actinobacteria y Cyanobacteria comparado con el control.

**Conclusiones:** La acumulación de cadmio en las plántulas de cacao modifica el microbioma de su filósfera evidenciando la compleja interacción entre microorganismos-planta-suelo. El resultado obtenido nos permite generar nuevas hipótesis sobre el posible efecto de la dinámica de los microorganismos sobre los mecanismos de absorción de cadmio y el rendimiento del cultivo.

## **Caracterización genómica de aislamientos clínicos de Enterobacteriaceae portadores del gen mcr-1 en un período 2012 a 2016 en Colombia**

**Saavedra SY<sup>1</sup>, Díaz L<sup>2,3</sup>, Wiesner M<sup>1</sup>, Correa A<sup>4</sup>, Arevalo SA<sup>1</sup>, Reyes J<sup>2,3</sup>, Hidalgo AM<sup>1</sup>, De la Cadena E<sup>4</sup>, Perenguez M<sup>4</sup>, Montaña LA<sup>1</sup>, Ardila J<sup>2</sup>, Ríos R<sup>2</sup>, Ovalle MV<sup>1</sup>, Díaz P<sup>1</sup>, Porras P<sup>2</sup>, RNL<sup>1</sup>, Vigilancia CIDEIM<sup>4</sup>, Villegas MV<sup>2,4</sup>, Castañeda E<sup>1</sup> y Duarte C<sup>1</sup>**

1.Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud (INS), Bogotá – Colombia. 2Molecular Genetics and Antimicrobial Resistance Unit – International Center of Microbial Genomics, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. 3Center for Antimicrobial Resistance and Microbial Genomics, University of Texas McGovern Medical School at Houston, Houston, TX. 4International Center for Medical Research and Training-CIDEIM, Cali, Colombia.

Las polimixinas son el último recurso terapéutico contra infecciones agudas causadas por Enterobacteriaceae resistentes a carbapenemasas. Desde la alerta del primer reporte de resistencia a colistina mediada por el gen mcr-1 en China, se ha confirmado la presencia de este gen en aislamientos animales y humanos en varios países. El objetivo del estudio, fue caracterizar aislamientos clínicos de Enterobacteriaceae que portan mcr-1 en Colombia.

**Métodos:** Fueron evaluados 513 (8.7%) aislamientos resistentes a polimixinas a partir de una colección de 5887 Gram negativos colectados durante una vigilancia realizada por el grupo de Microbiología-INS y el CIDEIM entre el 2002 y el 2016. La resistencia a colistina fue confirmada por E-test. Los aislamientos positivos para mcr-1 por PCR, fueron secuenciados en plataforma Illumina. Los genomas fueron caracterizados empleando las herramientas del Centro de Epidemiología Genómica y mediante PCR in silico. La localización de mcr-1 fue determinada por S1-PFGE y Ceul-PFGE acoplado a hibridación in situ. La transferabilidad fue evaluada por ensayos de conjugación.

**Resultados:** 12 (2.3%) de los 513 aislamientos resistentes a colistina, portaron mcr-1 entre los que se encontraron: 8 *Escherichia coli*, 3 *Salmonella Typhimurium* y 1 *Klebsiella pneumoniae*. Todos los aislamientos positivos para mcr-1 fueron obtenidos posterior al 2013. Las fuentes clínicas incluían heces, orina, sangre y abscesos. Los aislamientos de *E. coli* presentaron poca relación por PFGE y pertenecieron a 7 diferentes secuencias tipo (STs) así como diferentes filo-grupos. Los aislamientos de *S. typhimurium* y *K. pneumoniae* pertenecieron al ST34 y el ST307 respectivamente. El gen mcr-1 estaba integrado en un plásmido en todos los aislamientos, a excepción de dos aislamientos de *E. coli* que lo portaban en el cromosoma. Fueron realizados experimentos de transferencia de mcr-1 a la *E. coli* J53 AZR, donde ocho de diez frecuencias de conjugación oscilaron entre  $8.2 \times 10^{-5}$  a  $2.07 \times 10^{-1}$ . Análisis de las secuencias plasmídicas, sugieren que diferentes tipos de plásmidos podrían portar el gen mcr-1.

Conclusiones: El gen transferible mcr-1 está circulando en Colombia en aislamientos clínicos de Enterobacteriaceae, desde el año 2013. Análisis de los plásmidos portadores, sugieren diversas vías de movilización de este gen, entre bacterias de especies Gram negativas.



## Bacterias Marinas como fuente de compuestos quorum quencher

S. J. Naranjo-Gaybor<sup>1,2</sup>, Z. R. Suarez-Moreno<sup>3</sup>, J. F. León<sup>4</sup>, F. A. Ramos<sup>1</sup>, L. Castellanos<sup>1\*</sup>

1. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Departamento de Química, Carrera, Edificio de Química of 427, Bogotá, Colombia, 2. Universidad de las Fuerzas Armadas, ESPE Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA II Av. General Rumiñahui s/n, Sangolquí- Ecuador. 3. Investigación y Desarrollo, Empresa Colombiana de Productos Veterinarios VECOL S.A., Bogotá D.C.

Las bacterias marinas se consideran como una fuente prometedora para el descubrimiento de nuevos compuestos biológicamente activos que pueden usarse para superar el problema de suministro que muestran los productos naturales marinos. En este estudio, los microorganismos marinos se aislaron a partir de muestras de sedimentos, invertebrados y algas. Se recuperaron 203 aislamientos incluyendo 162 bacterias y 41 hongos (1). Todos los aislamientos se ensayaron in vivo frente a *Chromobacterium violaceum* ATCC 31532 en búsqueda de actividad quórum quencher, 17 bacterias estudiadas mostraron actividad. A continuación, se ensayaron los extractos acuosos y orgánicos de cepas bioactivas; 13 extractos orgánicos y 2 fases acuosas mostraron actividad, mientras que dos extractos de cepas no mostraron actividad.

Las cepas activas pertenecen a los Phyla Actinobacteria y Firmicutes. El extracto orgánico de la cepa *Streptomyces* sp. (IBUN 090-02089) demostró ser activa, el aislamiento cromatográfico guiado permitió identificar un péptido bioactivo por análisis de RMN. La producción de este compuesto depende en gran medida de las condiciones de cultivo. De la fase orgánica de *Micromonospora* sp (IBUN 090-02100) se identificó una fracción lipídica responsable de la bioactividad. El estudio de la fase acuosa de *Paenibacillus* sp. (IBUN 090-02110) permitió el aislamiento y caracterización de un lipopéptido antimicrobiano, similar al producido por *Paenibacillus ehimensis* (2).

### References

1. Betancur LA, Naranjo-Gaybor SJ, Vinchira-Villarraga DM, Moreno-Sarmiento NC, Maldonado LA, Suarez-Moreno ZR, et al. Marine Actinobacteria as a source of compounds for phytopathogen control: An integrative metabolic-profiling / bioactivity and taxonomical approach. Virolle M-J, editor. PLoS One [Internet]. 2017 Feb 22 [cited 2017 Mar 7];12(2):e0170148. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28225766>
2. Naing KW, Lee YS, Nguyen XH, Jeong MH, Anees M, Oh BS, et al. Isolation and characterization of an antimicrobial lipopeptide produced by *Paenibacillus ehimensis* MA2012. J Basic Microbiol. 2015;55(7):857–68.

## Estudio piloto de la aplicación de Fenton heterogéneo para la inactivación de *E. coli* en aguas residuales de docencia en la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana (PUJ)

Abelló-Esparza J<sup>1</sup>., Carrascal-Camacho A.K<sup>1</sup>., Daza C.E<sup>2</sup>., Pedroza Rodríguez A.M<sup>1</sup>.

1. Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia. 2. Grupo de Catálisis. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C., Colombia

El proceso de oxidación avanzada Fenton, donde se utilizan el peróxido de hidrógeno y sales de Fe<sup>2+</sup> bajo condiciones de acidez, genera especies reactivas de oxígeno capaces de degradar la materia orgánica, considerándose útil en el tratamiento de aguas residuales. En el presente estudio, se evaluó el proceso Fenton Heterogéneo utilizando un catalizador de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y CeO<sub>2</sub> soportado sobre carbón activado como alternativa para inactivar *E. coli* en aguas residuales generadas en las prácticas de microbiología de la PUJ.

Metodología: Se emplearon dos lotes de agua residual, Lote 1: pH 4,5; 3260 (UC); conductividad 0,804 ms-cm<sup>-1</sup> y 3,0x10<sup>12</sup> UFCmL<sup>-1</sup> de población bacteriana y, Lote 2: pH 4,98; 7935 (UC); conductividad 0,83 ms-cm<sup>-1</sup> y 1,0x10<sup>14</sup> UFCmL<sup>-1</sup>. El agua se inoculó artificialmente usando *E. coli* hasta una concentración de 10<sup>7</sup> UFCmL<sup>-1</sup>. El tratamiento Fenton heterogéneo se realizó con un volumen efectivo de trabajo de 400 mL del agua residual, 160 mg-mL<sup>-1</sup> de catalizador Fe-Ce, pH =3,7, 20°C y 1 atm de presión. El suministro del reactor fue de 2 Lh<sup>-1</sup> de aire y 0,3mLh<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,3 M. Se realizó siembra en profundidad en agar VRB para el recuento de UFC al final de cada tratamiento. La siembra se realizó cada 10 min en la primera hora, y cada hora a partir de la segunda hora hasta completar 14 h. Al final, se determinó la reactivación de *E. coli* en el agua pos-tratada, así como la reutilización del agua para coloraciones de Gram.

Resultados: El catalizador de Fe-Ce/carbón activado presentó morfología granular, una apariencia porosa e irregular, y capas agrupadas como resultado de estructuras laminares de grafeno. Al final del tratamiento, se observó una disminución de 6 unidades logarítmicas de *E. coli*, con una concentración final de 10<sup>1</sup> UFCmL<sup>-1</sup>. No se observó reactivación, obteniéndose una inactivación del 100%. Con la reutilización el agua pos-tratada se obtuvo un porcentaje de tinción Gram entre el 96-100%.

Conclusiones: El tratamiento Fenton heterogéneo inactivó una concentración de 6 unidades logarítmicas de *E. coli*, no hubo reactivación secundaria del agua pos-tratada pasadas las 12 y 24 h y, el agua pudo reutilizarse para las tinciones de Gram en otras prácticas de microbiología.

## **Caracterización microbiológica de especies de *Pseudomonas* en una matriz de suelo sometida a proceso de bioaumentación y bioestimulación**

**Pereira Cardeño Eliana Marcela**

Universidad Industrial de Santander

Poco se conoce acerca de la diversidad bacteriana del suelo de los rellenos sanitarios y particularmente del suelo del relleno sanitario El Carrasco, principal sitio de disposición final de residuos del departamento de Santander. El presente estudio tuvo como objetivo la caracterización microbiológica de especies de *Pseudomonas* presentes en una matriz de suelo tomada de dicho relleno sanitario, sometida a proceso de bioaumentación y bioestimulación.

**Materiales y Métodos:** Se utilizaron métodos fenotípicos de identificación bacteriana para la caracterización de especies de *Pseudomonas* partiendo de una matriz de suelo tomada de El Carrasco. Esta caracterización se realizó en la muestra nativa y un mes después de que esta fuera sometida solo a bioaumentación y a bioaumentación más bioestimulación. Los aislamientos se obtuvieron mediante método de recuento en placa y posteriores repiques en medios de cultivo diferenciales y selectivos para la obtención de cultivos puros. La identificación se realizó mediante el análisis de la morfología macroscópica y microscópica, y características metabólicas de los aislamientos.

**Resultados:** Los resultados obtenidos evidencian la presencia de bacilos Gram negativos compatibles con el género *Pseudomonas* (muestra nativa: 2 colonias compatibles; muestra post biorremediación: 7 colonias compatibles). Sin embargo, estos bacilos permanecieron mezclados con otras morfologías bacterianas (bacilos y cocobacilos Gram positivos), a pesar de los sucesivos repiques en medios de cultivo indicados para el aislamiento de algunas de las principales especies de *Pseudomonas* del suelo, sugiriendo la posible formación de consorcios microbianos.

**Conclusiones:** Las posibles bacterias del género *Pseudomonas* presentes en esta matriz de suelo, no se logran identificar mediante la metodología propuesta, y deben ser estudiadas a través de métodos específicos para la caracterización de consorcios microbianos.

## Comparación de la resistencia bacteriana a diferentes tipos de desinfectantes

**Castaño -Heno O.L.<sup>1\*</sup>; Caro Hernández P.A.<sup>2</sup>; García Méndez D.F.<sup>4</sup>; Arenas Martínez E.A.<sup>5</sup>;  
Bolaños Sánchez C.A.<sup>6</sup>; Sanabria Gómez I.J.<sup>3</sup>**

1\* Bióloga, estudiante de doctorado en Ingeniería Sanitaria y Ambiental Universidad del Valle. 2 Investigador Senior y profesor titular Universidad Libre Seccional Cali. Grupo Microambiente Libre.

3 Investigador Senior y profesor titular Universidad del Valle. Director Grupo de procesos avanzados para tratamientos químicos y biológicos. 4 Biólogo. Joven Investigador Colciencias 2016 Universidad del Valle. 5 Microbióloga. Joven Investigador Colciencias 2016 Universidad del Valle. 6 Ingeniero Sanitario y Ambiental. Universidad del Valle

La desinfección es un proceso esencial en el tratamiento de agua para consumo humano, y su efectividad depende de las condiciones microbiológicas y las características fisicoquímicas de la fuente a tratar. Estos dos factores se suman a las formas particulares como cada desinfectante actúa.

El efecto nocivo de la desinfección debido a las elevadas dosis de cloro necesarias para tratar aguas contaminadas, ha motivado la búsqueda de desinfectantes alternativos y la revisión del proceso de cloración.

La pérdida de cultivabilidad que ocurre antes de alcanzar la desinfección total se ha reportado extensamente en la literatura, convirtiéndose en una de las principales preocupaciones durante el monitoreo de la calidad del agua. Este estudio evaluó la respuesta celular a la desinfección haciendo seguimiento de la cultivabilidad de algunos grupos de bacterias patógenas naturalmente presentes en dos fuentes de agua: una superficial y una subterránea.

Muestras de ambas fuentes fueron sometidas de forma simultánea a radiación UVC, peróxido/UVC, foto-fenton, cloración y ozonización. Se utilizó el cultivo en caldo Infusión corazón cerebro (BHI) a 37°C / 24-72 h para facilitar la recuperación de bacterias en cultivo mixto. La siembra de inóculos de estos cultivos en agar nutritivo, agar EMB, agar Cetrimide, agar Salado Manitol y agar Enterococcosel, permitió diferenciar algunos grupos bacterianos capaces de recuperar cultivabilidad. Una posterior secuenciación 16S rRNA de los cultivos mixtos permitió apreciar los cambios en la diversidad bacteriana indígena de las aguas tratadas.

Los resultados indican que, aunque algunos grupos bacterianos pueden recuperarse en BHI, pierden la habilidad de crecer en placas de agar. Las bacterias entéricas son el grupo que muestra mayor capacidad de recuperar la cultivabilidad en medio sólido selectivo, seguido por cocos Gram-positivos y Pseudomonas.

De la secuenciación de los cultivos mixtos se obtuvo que los otus de patógenos más resistentes encontrados en las aguas subterráneas fueron *Pseudomonas* bajo UVC y ozonación, y *Bacteroides* y *Aeromonas* bajo Fotophenton; mientras que los otus más resistentes encontrados en agua superficial fueron *Staphylococcus* bajo cloración y ozonización, *Clostridium* y *Klebsiella* bajo Fotophenton, y *Pseudomonas* bajo ozonización

## Resistencia a linezolid mediada *OptrA* en un aislamiento clínico de *Enterococcus faecalis* de Colombia

Echeverri AM<sup>1</sup>, Carvajal LP<sup>1</sup>, Hidalgo A.<sup>2</sup>, Duarte C<sup>2</sup>, Reyes J<sup>1</sup>, Ríos R<sup>1</sup>, Ferro C.<sup>1</sup>, Porras P<sup>1</sup>, Munita JM<sup>3</sup>, Arias CA<sup>4</sup> y Díaz L<sup>1</sup>.

1Unidad de Genética y Resistencia Antimicrobiana – Centro Internacional de Genómica Microbiana, Universidad el Bosque, Bogotá, Colombia. 2 Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. 3 Clínica Alemana y Universidad del Desarrollo, Chile. 4 Center for Antimicrobial Resistance and Microbial Genomics, Universidad de Texas McGovern Medical School at Houston, Houston, Texas.

Los mecanismos de resistencia a LNZ incluyen mutaciones en el rRNA 23S y *cfr*. En 2015 fue descrito por primera vez en China el gen *optrA* en un *E. faecalis* clínico y se predice funciona como un transportador ABC asociado con resistencia a linezolid y tedizolid. Nuestro objetivo fue caracterizar el mecanismo de resistencia de un *E. faecalis* resistente a linezolid (CIM 16 µg/mL) recolectado de un paciente con infección recurrente de tracto urinario en Colombia en el 2016.

Metodología: La CIM para LNZ, AMP, CHL, TEI y VAN se evaluó por microdilución en caldo (CLSI 2016). Se identificó la presencia de *cfr* por PCR y realizamos secuenciación de genoma completo (WGS) para estudiar mutaciones en el rRNA 23S y las proteínas L3 y L4 utilizando el ensamblaje de referencia vs *E. faecalis* V583. WGS fue realizada en plataforma illumina usando MiSeq. El ensamblaje de novo y la anotación del genoma se hicieron usando CLC Workbench V.8.5.1 y RAST V 2.0. La caracterización genómica se realizó con herramientas bioinformáticas del Center for genomic epidemiology (MLST V. 1.8 y ResFinder V.2.1).

Resultados: El *E. faecalis* perteneciente al ST21 fue resistente a LNZ y CHL (16 µg/ml y 32 µg/ml respectivamente), susceptible a AMP, TEI, VAN. *cfr* no se encontró dentro del genoma. No se encontraron mutaciones en el rRNA 23S ni en las proteínas L3 o L4. El análisis del resistoma reveló diversos genes entre ellos *optrA* y *fexA*. Para este caso, *optrA* fue el único gen encontrado que se asocia con resistencia a linezolid. El ambiente genético de este gen incluyó genes de: resistencia antimicrobiana, replicación de plásmidos, transferencia por conjugación, resolvasas y transposasas; lo que sugiere que este gen se encuentra dentro de un plásmido. Sin embargo, no se logró observar transferibilidad.

Conclusiones: Describimos la presencia de *optrA* en un aislamiento clínico de *E. faecalis* resistente a LNZ en Colombia. Además, no se identificó ningún otro mecanismo de resistencia anteriormente descrito, sugiriendo que *optrA* es el mayor contribuyente a esta resistencia. Nuestros resultados sugieren también que *optrA* se encuentra en un plásmido que no fue transferido eficientemente.

## **¿Puede la secuenciación de genoma completo (WGS) identificar los aislamientos heterogéneos de *Staphylococcus aureus* intermedio a vancomicina (hVISA)?**

**Carvajal LP<sup>1</sup>, Berrio M<sup>2</sup>, Díaz L<sup>1,3</sup>, Reyes J<sup>1,3</sup>, Ardila J<sup>1</sup>, Porras P<sup>1</sup>, Rincón S<sup>1</sup>, Ríos R<sup>1</sup>, Munita JM<sup>1,3,4</sup>,  
and Arias CA<sup>1,4</sup>**

1 Unidad de Genética y Resistencia Antimicrobiana– Centro Internacional de Genómica Microbiana, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia, 2 Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, 3Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo, Chile.4Center for Antimicrobial Resistance and Microbial Genomics, University of Texas McGovern Medical School at Houston, Houston, TX.

La vancomicina es el antibiótico más utilizado para el tratamiento de infecciones por SARM. Sin embargo, ha aumentado la preocupación debido al reporte de aislamientos que muestran bajos niveles de resistencia, conocidos como VISA. Es importante resaltar que en algunos casos solo una subpoblación bacteriana exhibe este fenotipo (VISA heterogéneos hVISA) haciéndolos particularmente difíciles de diagnosticar mediante pruebas convencionales de susceptibilidad. A pesar de que algunos de los sistemas reguladores principales participan en el desarrollo del fenotipo VISA / hVISA, falta comprender completamente los mecanismos genéticos asociados. Nuestro objetivo fue analizar por medio de WGS la detección de marcadores moleculares en cepas de hVISA recuperadas en América Latina.

Métodos: Utilizando un secuenciador MiSeq, se realizó WGS en tres aislamientos clínicos hVISA (Ecuador y Perú) colectados en una vigilancia previa. El fenotipo hVISA había sido previamente confirmado por PAP / AUC y GRD. Los genomas fueron tipificados utilizando herramientas del Center for Genomic Epidemiology y PCRs in silico. Usando el genoma de *S. aureus* N315, se exploraron los cambios en aminoácidos de 17 proteínas previamente implicadas en el desarrollo del fenotipo VISA/hVISA.

Resultados: Los tres aislamientos pertenecen al CC5, son SCCmeI, PVL-negativos y Agr tipo II. Presentaron genes de resistencia para beta-lactamasas, aminoglucósidos, macrólidos y fluoroquinolonas, y mutaciones que confieren resistencia a la ciprofloxacina. Se encontraron cambios de aminoácidos en WalkR, Atl, TcaA y RpoB. Todas las cepas tuvieron la sustitución L218P en TcaA, un cambio descrito previamente en cepas VISA. Además, las cepas del Perú mostraron el cambio Y814H en AtIA, una posible autolisina bifuncional. La cepa ecuatoriana contuvo la sustitución H481N en RpoB, presente en Mu50, (cepa referencia hVISA) y que ha estado directamente involucrada con en el fenotipo VISA/hVISA. No se observaron cambios en VraSR o GraSR.

Conclusiones: Identificamos los cambios genéticos de VISA/hVISA en los genomas secuenciados. Por lo tanto, creemos que WGS podría ser una estrategia prometedora para la detección de cepas hVISA y puede apoyar el futuro desarrollo de WGS basado en herramientas moleculares para la detección de hVISA.



## **Caracterización clínica y molecular de *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina (SASM) de pacientes que presentaron falla terapéutica a cefalosporinas**

**Nannini E. C.<sup>1</sup>, Reyes J.<sup>2</sup>, Díaz L.<sup>2</sup>, Ferro C.<sup>2</sup>, Carvajal L. P.<sup>2</sup>, Porras P.<sup>2</sup>, Ríos R.<sup>2</sup>, Miller W. R.<sup>3</sup>,  
Munita J. M.<sup>4</sup>, Arias C. A.<sup>3</sup>.**

1.Facultad Ciencias Médicas, Univ. Natl. de Rosario; Inst. de Inmunología Clínica y Experimental Rosario (IDICER), CONICET, Rosario, Argentina, 2Molecular Genetics and Antimicrobial Resistance Unit, Intl. Ctr. for Microbial Genomics, Univ. El Bosque, Bogotá, Colombia, 3Ctr. for Antimicrobial Resistance and Microbial Genomics, Univ. of Texas McGovern Sch. of Med. Houston, TX, 4Clinica Alemana, Univ. del Desarrollo, Santiago, Chile.

Las cefalosporinas son usadas frecuentemente en el tratamiento de infecciones causadas por SASM, sin embargo, han sido reportados casos de falla terapéutica a cefalosporinas presumiblemente relacionados con el efecto inóculo y la producción de betalactamasa tipo A. En este trabajo se presenta la caracterización microbiológica y genómica de doce aislamientos obtenidos de cinco pacientes con infecciones graves por SASM y que presentaron falla terapéutica a cefalosporinas.

**Materiales y métodos :** Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIMs) en inóculo estándar y alto inóculo a cefazolina, cefalotina, cefalexina, cefuroxime, ceftriaxona, cefotaxime y cefepime, en doce aislamientos SASM de cinco pacientes con bacteriemia que presentaron falla terapéutica o recaída en el tratamiento con cefalosporinas. Se realizó PFGE y secuenciación de genoma completo en plataforma Illumina.

**Resultados:** Fueron aisladas 12 cepas de cinco pacientes con bacteriemia grave causada por SASM. Los diagnósticos incluyeron osteomielitis, espondilodiscitis, absceso del psoas, absceso epidural, absceso perinefrítico, endocarditis de la válvula aórtica nativa e infección del injerto arteriovenoso. Un paciente presentó falla terapéutica a cefalexina después de ser tratado vía intravenosa con cefalotina por cuatro semanas; tres pacientes presentaron falla terapéutica a cefalotina y uno presentó recaída después del tratamiento con cefalotina, cefazolina y daptomicina. Todos los pares clínicos tienen al menos un aislamiento que presentó efecto inóculo a cefalosporinas. Ocho aislamientos presentaron BlaZ tipo C, dos aislamientos BlaZ tipo B, y dos aislamientos no presentaron Bla. Los pares clínicos en cada caso mostraron patrones de PFGE relacionados, el mismo tipo de BlaZ, ST, tipo de spa, resistoma y viruloma. Así mismo, no se encontraron mutaciones en el operon bla al comparar los aislamientos del mismo paciente.

Conclusiones: Se determinaron dos tipos de Bla (B y C) que no habían estado tan asociados, como el tipo A, a fallas terapéuticas con cefalosporinas, sin embargo, no se encontraron diferencias entre secuencias del operon bla, ni entre otras características moleculares estudiadas entre pares clínicos que pudieran explicar las fallas terapéuticas. Es necesario realizar más estudios que evalúen el mecanismo molecular y el impacto clínico del efecto inóculo a cefalosporinas en el desarrollo clínico de infecciones graves causadas por SASM.

## **Prevalencia y susceptibilidad antimicrobiana de bacterias potencialmente patógenas aisladas de elementos recreativos en parques públicos de Bogotá, Colombia.**

**González Lozano, D.; Camacho, C.; Méndez Rodríguez, I.**

Universidad Militar Nueva Granada

La constante interacción en actividades de esparcimiento entre personas, microorganismos y el ambiente en particular con elementos recreativos puede ser en algunos casos, el inicio de infecciones que pueden llevar a enfermedades y convertirse en un problema de salud pública, siendo una potencial amenaza para niños que habitualmente tienen contacto con pasamanos, rodaderos y otros en los parques. Se han realizado estudios en parques, encontrando helmintos y protozoos asociados a suelos o fuentes hídricas, más no de bacterias en elementos recreativos de los parques, por lo cual, es necesario establecer la prevalencia y susceptibilidad antibiótica para bacterias potencialmente patógenas, aisladas en estos elementos recreativos en parques públicos de la ciudad de Bogotá, Colombia. Cuatro parques fueron evaluados, donde se tomaron las muestras para el posterior análisis. Se lograron identificar a partir de pruebas bioquímicas 11 géneros y 9 especies, tales como *Staphylococcus* spp. (14,5%) *S. epidermidis* (19,7%) *S. aureus* (13,1%), *Enterobacter* spp. (7,9%), *Streptococcus* spp. (3,9) *Salmonella gallinarum* (2,6%), *Yersinia enterocolitica* (1,3%), entre otros. Los aislamientos de bacterias Gram negativas presentaron 72% y 75% de susceptibilidad a ampicilina y ceftriaxona, y los aislamientos de bacterias Gram positivas presentaron 89% de susceptibilidad a oxacilina y clindamicina. Todos los aislamientos presentaron un elevado porcentaje de susceptibilidad a ciprofloxacina (89%), trimetoprim (97,9%) y ciprofloxacina (100%). Además, se reportan dos cepas de *S. aureus* que presentan resistencia a oxacilina, de las cuales una cepa presenta susceptibilidad a vancomicina (VSSA) y la otra presenta susceptibilidad intermedia (VISA). Varios géneros y especies reportados son considerados microorganismos oportunistas, sin embargo, estos microorganismos, más los que son considerados patógenos, representan una amenaza a la salud humana, en este caso principalmente de niños, por lo cual, es esencial tener y promover planes de higiene posteriores al contacto con elementos recreativos en parques públicos, y es fundamental establecer un mayor control y supervisión en estos lugares por las autoridades competentes, para evitar así posibles problemas de salud pública.

## **Producción en plantas de un antígeno relacionado a la enfermedad de Alzheimer empleando un vector viral inducible**

**Jessica Andrea Acevedo Restrepo, Sergio Rosales Mendoza**

Facultad de Ciencias Químicas. Universidad autónoma de San Luis Potosí, México

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la patología neurodegenerativa más común. Los conglomerados de  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) desempeñan un papel clave en la formación de placas seniles en la EA. El receptor de los productos finales de glicación avanzada (RAGE) se considera una molécula importante en el desarrollo y la progresión de la EA, ya que transporta  $A\beta$  hacia el sistema nervioso central (CNS), lo que favorece la progresión de la patología. Debido a la falta de disponibilidad de terapias efectivas para la EA existe una exploración extensiva para el desarrollo de terapias, entre las que la vacunación es considerada una alternativa prometedora. Previamente nuestro grupo de investigación realizó experimentos para producir un inmunógeno basado en RAGE (LTB-RAGE) en las células vegetales, con la finalidad de iniciar el desarrollo de un modelo de vacuna atractivo en términos de costos y la viabilidad de realizar inmunización vía oral. Dado que la expresión de antígeno condujo a efectos deletéreos en la planta, la en la presente tesis se desarrolló un sistema de expresión inducible por el etanol a fin de superar los efectos tóxicos de LTB-RAGE. Este sistema permite la generación de replicones virales basados en geminivirus a partir de inserciones estables de ADN heterólogo, lo que potencia la capacidad de expresión. Este sistema de expresión combina la capacidad de expresión alta de los replicones virales, con la expresión inducible que es crítica cuando la proteína de interés es tóxica para la planta. El sistema permitió la expresión exitosa de LTB-RAGE, detectada por Western blot tras la inducción por etanol. Por lo tanto, la proteína LTB-RAGE conserva su actividad antigénica y puede ser producida mediante esta estrategia que permite desfazar la etapa de producción de biomasa de la expresión de la proteína tóxica. Este enfoque será útil para la producción de otros biofármacos en las plantas.

**Prevalencia de mutaciones no sinónimas en genes, que codifican para proteínas transportadoras putativas de islados de *Plasmodium vivax* con diferentes niveles de resistencia a Cloroquina**

**Omaira Vera Lizcano<sup>1,2</sup>; Ana Carla Sodr e<sup>2</sup>; Marcelo Urbano-Ferreira<sup>3</sup> and Mariano G Zalis<sup>2</sup>**

1 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias B asicas, Universidad Santiago de Cali, Cali/Colombia. 2 Laboratório de Parasitologia Molecular, HUCFF-UFRJ, Rio de Janeiro/RJ, Brazil; 3 Departamento de Parasitologia, Instituto de Ci ncias Biomédicas, Universidade de Paulo, São Paulo/SP, Brazil.

**Introducción:** La presencia de mutaciones o la sobreexpresión de proteínas transportadoras han sido factores relacionados con la resistencia a medicamentos en diferentes tipos de organismos, en ese mismo sentido, también se considera que el nivel de la resistencia es debido a la interacción de multiples proteínas. En *Plasmodium falciparum* fue demostrado que la proteína PfCRT tiene un papel importante, mientras que la proteína PfMDR1 h  sido considerada una molécula moduladora del nivel de resistencia de estos parasitos a la Cloroquina. En contraste, en *Plasmodium vivax*, no ha sido identificada una proteína que tenga ese papel principal, estudios han mostrado que la proteína PvCRT no está relacionada con la resistencia a este medicamento. Debido principalmente, a la dificultad de mantener el *Plasmodium vivax* en cultivo continuo, pocos estudios se han realizado, sin embargo, en la actualidad nuevas metodologías de alto rendimiento han permitido tener un mejor conocimiento sobre este parasito.

**Objetivo:** El objetivo de este estudio fue evaluar por medio de herramientas bioinformáticas un grupo de genes de *Plasmodium vivax*, genes que codifican para proteínas putativas, las cuales podrían estar involucradas en la resistencia a la Cloroquina.

**Métodos:** Los genes fueron identificados por ortología con *Plasmodium falciparum*, genes que fueron relacionados con algún nivel de resistencia a la Cloroquina y Quinina en *Plasmodium falciparum* y para algunos de los genes, estudios posteriores con metodologías de alto rendimiento han sido mostrados como genes que est n bajo presión de selección. Los islados de los parasitos fueron obtenidos de pacientes con malaria aguda, de la región endémica de Amazonas en Brazil. Los niveles de dosis-respuesta del parasito a la Cloroquina fueron evaluados utilizando el cultivo de corto termino. Los genes fueron identificados, los primeros diseñados para amplificar en su longitud cada gen y posteriormente secuenciados. Los polimorfismos fueron identificados comparando con la cepa Sal-I. Las mutaciones fueron correlacionados con el fenotipo de sensibilidad de los parasitos a la Cloroquina.

**Resultados y conclusión:** La frecuencia de las mutaciones no sinónimas encontradas en los genes PVX\_080100, PVX\_097025 y PVX\_124085 de los aislados estudiados muestran que estos genes podrían estar bajo presión de selección que podría ser por la exposición continuada a Cloroquina, que es el tratamiento de elección para mal ria por *Plasmodium vivax* en la región endémica de donde fueron adquiridas estos aislados.