LIBRO DE RESUMENES

XV Congreso Argentino de Microbiología
(CAM 2019)

V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos
(V CAMA)

V Congreso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos y Cosméticos
(CLAMME 2019)

XIV Congreso Argentino de Microbiología General
(XIV SAMIGE)

Asociación Argentina de Microbiología (AAM)

25 a 27 de septiembre de 2019
Golden Center Eventos
Int. Cantilo e Int. Güiraldes s/n.
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

ISBN 978-987-46701-5-1

XV Congreso Argentino de Microbiología - CAM 2019.
V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos - V CAMA.
V Congreso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos y Cosméticos - CLAMME 2019:
libro de resúmenes / compilado por Paula Gagetti; María Victoria Preciado; María Alejandra Picconi. - 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2019.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-46701-5-1

1. Microbiología. I. Gagetti, Paula, comp. II. Preciado, María Victoria, comp. III. Picconi, María Alejandra, comp.

CDD 579.0282

XV CONGRESO ARGENTINO DE MICROBIOLOGÍA (CAM 2019)

Comisión Organizadora CAM 2019

Presidente:	María Alejandra Picconi
Vicepresidentes:	Adriana Sucari Gustavo Giusiano
Secretaría General:	Viviana Mbayed
Secretaría de Actas:	Sandra Pampuro
Tesorería:	Nora López Roberto Suárez Álvarez
Secretaría Científica:	Paula Gagetti María Victoria Preciado
Comité Científico:	Iris Agorio Marisa Almuzara Cybele García Walter Mazzini Ricardo Rodríguez Diego Sauka Diana Vullo Inés Zapiola
Secretaría Técnica:	Silvia Raffellini
Comité Técnico:	Flavia Amalfa Silvina Fernández Giuliano Alfonsina Moavro Irma Morelli Daniela Russo Gabriela Turk Claudio Valverde Verónica Vogt Esteban Zarankin

Comisiones Organizadoras de Congresos vinculados

V CONGRESO ARGENTINO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS (V CAMA)

Presidente: Gerardo Leotta

Vicepresidente 1º: Gabriel Vinderola

Vicepresidente 2º: Sergio Epszteyn

Secretaria General: Celina Horak

Secretaria de Actas: Celia Melamed

Secretario Científico: Juan Martín Oteiza

Comité Científico:
Carina Audisio
Jorge Culasso
Virginia Fernández Pinto
Patricia Knass
Andrea Patriarca
Nancy Passalacqua
María Laura Sánchez
Marcelo Signorini Porchietto
Cristian Suarez

V CONGRESO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGÍA DE MEDICAMENTOS Y COSMÉTICOS (V CLAMME)

Presidente: Sergio Iglesias

Vicepresidente: Graciela Torno

Secretaria General: Andrea Cueli

Secretaria de Actas: Mariana Scotto

Secretarios Científicos:
Mónica Lagomarsino
Walter Mazzini

Vocales:
María Cristina Fernández
Celina Horak
Roxana Monardez

XIV CONGRESO ARGENTINO DE MICROBIOLOGÍA GENERAL - SAMIGE (XIV SAMIGE)

Leonardo Curatti (Tesorero)

Marcela Ferrero

Estela Galván (Revisora de Cuentas)

Eleonora García Vescovi (Presidente)

Nancy López

Laura Raiger Iustman (Pro-Secretaria)

Daniela Russo

Andrea Smania (Vice-Presidente)

Claudio Valverde (Secretario)

Diana Vullo

Osvaldo Yantorno (Presidente Saliente)

PRESENTACIONES ORALES Y PÓSTERS DEL XV CONGRESO ARGENTINO DE MICROBIOLOGÍA (CAM 2019)

Presentaciones Orales

Presentaciones orales CAM 1

Antimicrobianos, Bacteriología Clínica

Miercoles 25 de septiembre
17:00 – 18:30 h
Sala F

Oral MI 1

0092 - RESPUESTA INMUNOMETABÓLICA EN ADULTOS MAYORES CON INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO FRENTE A FACTORES DE VIRULENCIA ASOCIADOS A SEPSIS EN *ESCHERICHIA COLI*

GONZALES RODRIGUEZ, Arturo Octavio [1] | BARRÓN PASTOR, Heli Jaime[2] | GUTIERREZ VILLAFUERTE, Cesar Arturo[3] | LLIMPE MITMA, Yesica[4] | HUERTA CANALES, Doris Virginia[5] | INFANTE VARILLA, Stefany Fiorella[6] | WONG CHERO, Paolo[7]

CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE PIURA. LIMA [1]; CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. LIMA [2]; CÁTEDRA DE EPIDEMIOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE PIURA. LIMA [3]; CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. LIMA [4]; CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. LIMA [5]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE PIURA. LIMA [6]; CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE PIURA. LIMA [7]

Introducción y Objetivos: Las ITU son la segunda infección más frecuente en población adulta mayor (PAM) institucionalizada, siendo *Escherichia coli* el principal agente causal. La probabilidad de desarrollar complicaciones clínicas como consecuencia de estas infecciones en PAM es mayor en comparación con la población geriátrica no institucionalizada. Estas complicaciones pueden llevar con más frecuencia a pielonefritis, bacteriemia y muerte. La respuesta inmunometabólica en los adultos mayores es vital para controlar las infecciones del tracto urinario y evitar un estadio de sepsis. La alta adaptabilidad genética de las *E. coli* conlleva a que expresen factores de virulencia que dificulten su aclaramiento en el tracto urinario. Nuestro estudio buscó correlacionar la respuesta inmunometabólica en orina de adultos mayores con infección del tracto urinario por *E. coli* con la presencia de factores de virulencia asociados a sepsis en *E. coli*.

Materiales y Métodos: Se incluyeron 24 muestras de orina de adultos mayores con ITU residentes en centros de reposo gerontológicos. Se cuantificó el hierro en orina, el TNF–alfa; y la IL–1 beta; por el método de ELISA directo, la capacidad antioxidante en la orina por la metodología de ABTS*+ y FRAP, finalmente, por PCR se evaluaron 11 genes de virulencia asociados a sepsis (*alfa-hly, chuA, aer, cnf1, sfa, pap GI, pap GII, papa GIII, nanA* y *TcpC*). Los resultados se analizaron mediante la prueba de Chi-cuadrado con el software Epidat 4.1. Los valores de $p<0,05$ se consideraron significativos.

Resultados: En relación a los genes codificantes de exotoxinas, 8,3% (2/24); 4,16% (1/24) y 0% (0/24) presentaron el gen *alfa-hly*, *cnf1* y *TcpC*, respectivamente. En los genes asociados al metabolismo del hierro, *chuA* estuvo en el 79,17% (19/24), *aer* en 70,83% (17/24) y *iucC* en 45,83% (11/24). La única adhesina observada fue *pap G-II* en 83,33% (20/24). El 95,83% presentó al gen *nanA*, asociado al metabolismo energético. Se observó asociación entre las *E. coli* portadoras del gen *pap G–II* y la mayor presencia de hematíes en la orina ($p = 0,010$), lo cual también fue observado con la concentración de hierro ($p = 0,004$). Además, se encontró una tendencia positiva en los pacientes de presentar una mayor capacidad antioxidante por el método de ABTS*+ ($p = 0,059$) cuando las *E. coli* eran portadoras del gen *pap G-II*.

Conclusiones: Concluimos que las *E. coli* portadoras del gen *pap G-II* inducen mayor daño tisular que, posiblemente, favorece la mayor concentración de hierro en orina, lo cual estimula su crecimiento. Por otro lado, la tendencia positiva en los pacientes infectados *E. coli - pap G–II*(+) de tener una mayor capacidad antioxidante, puede deberse a la deficiencia en la producción de ROS por parte de los neutrófilos reclutados en la PAM. Finalmente, la presencia generalizada del gen *nanA* es importante debido a su alta relevancia en estadios de sepsis y sugerimos que la ausencia del gen *TcpC* se debe a una reciente adquisición evolutiva del gen en las *E. coli*.

Oral MI 2

0329 - *BLA*$_{OXA}$-788: NUEVA VARIANTE DE *BLA*$_{OXA}$-48$_{LIKE}$ EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *PROVIDENCIA STUARTII* DE ARGENTINA

DE MENDIETA, Juan Manuel [1] | TIJET, Nathalie[2] | MELANO, Roberto[2] | DE BELDER, Denise[1] | PASTERAN, Fernando[1] | RAPOPORT, Melina[1] | FENÁNDEZ LAUSI, Adriana[3] | GIOVANAKIS, Marta[4] | GARBASZ, Claudia[5] | CORSO, Alejandra[1] | GOMEZ, Sonia Alejandra[1]

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN" [1]; PUBLIC HEALTH ONTARIO LABORATORY [2]; HOSPITAL POSADAS [3]; HOSPITAL BRITÁNICO [4]; HOSPITAL PIROVANO [5]

Introducción y Objetivos: OXA-163, variante de OXA-48, es una ß-lactamasa de clase D diseminada en Argentina que hidroliza eficientemente las cefalosporinas y débilmente los carbapenemes. Desde abril de 2017 a junio de 2018, se derivaron al Laboratorio Nacional de Referencia 3 aislamientos de *P. stuartii* de 3 pacientes y 3 hospitales del AMBA, sospechosos de expresar OXA-163 y luego confirmados como productores de una nueva variante. Por esto, nos propusimos caracterizar molecularmente el nuevo alelo de *bla*$_{OXA}$-163 y su mecanismo de diseminación.

Materiales y Métodos: Los aislamientos M22246, M23045 y M23362 fueron recuperados de aspirado traqueal, líquido pleural y herida de quemadura respectivamente. El perfil de resistencia se determinó por difusión por discos (CLSI 2019). El nuevo alelo, su entorno genético y los grupos de incompatibilidad (Inc) se estudiaron por PCR y secuenciación por Sanger. La relación genética se evaluó por PFGE -NotI. *Escherichia coli* J53 resistente a azida se empleó como aceptora en ensayos de conjugación. El número y tamaño de plásmidos (PL) se estimó por nucleasa S1-PFGE. El PL pM22246 se secuenció por Illumina (MiSeq) con la química Nextera XT y por Sanger para su circularización. El ensamble se hizo con SPAdes v.3.12 y la anotación con Prokka v.1 y AMRfinder v.1.02. El Inc se confirmó con PlasmidFinder v2.0

Resultados: Los resultados mostraron que no hubo relación genética entre los 3 aislamientos pero mostraron un perfil fenotípico similar, siendo resistentes a meropenem, ertapenem, fosfomicina y timetroprima/sulfametoxazol. Todos fueron sensibles a cefalosporinas de tercera generación. 2/3 fueron sensibles a piperacilina/tazobactam y amicacina y 1/3 a ciprofloxacina. Se detectó una nueva variante desinada OXA-788 que difirió de OXA-163 en una sustitución aminoacídica (V120L) en la posición 120 del motivo II del sitio activo. *bla*$_{OXA788}$ se localizó en PL transferibles de tamaño estimado similar: 145 kb en M22246 y M23045, y 135 kb en M23362 pertenecientes al IncC. Las transconjugantes fueron sensibles a carbapenemes y a cefalosporinas. De la secuenciación completa de pM22246 se obtuvieron 3 contigs que al cerrarse sumaron 142.878 pb. Los genes de resistencia acompañantes fueron: *sul2*, *aph(3´´)-Ib*, *aph*^{6}*-Id*,*tet(A)*, *qnrB1* y *dfrA14*. El entorno genético inmediato tuvo el siguiente orden: IS*4321*, *TnAs2* truncado, tnp*A* truncado, *bla*$_{OXA}$-788, Tn*1999.2* truncado, tnp*A* truncado de la familia IS*4*. Este entorno se comprobó en los tres aislamientos.

Conclusiones: Este es el primer reporte de *bla*$_{OXA}$-788 localizado en un PL transferible en aislamientos clínicos no relacionados de *P. stuartii*. La expresión de OXA-788 en *E. coli* J53 mostró menor actividad hidrolítica frente a carbapenemes y cefalosporinas que OXA-163. El gen se localizó en un elemento genético en mosaico resultante de posibles recombinaciones y de transposiciones no relacionadas. Más estudios son necesarios para determinar la capacidad hidrolítica de OXA-788 frente a ß-lactámicos y la capacidad de diseminación a otras especies bacterianas.

Oral MI 3

0330 - DISEÑO DE UNA PCR MÚLTIPLE PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE ENTEROBACTERIAS, *PSEUDOMONAS* SPP. Y *ACINETOBACTER* SPP.

ALBORNOZ, Ezequiel | DANZE, Diego | DE MENDIETA, Juan | CELAYA, Federico | CERIANA, Paola | PASTERAN, Fernando | CORSO, Alejandra | FACCONE, Diego

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: En 2018 se aprobó en Argentina el uso de ceftacidima/avibactam (CZA) para el tratamiento de infecciones causadas por gérmenes difíciles de tratar, como enterobacterias (ETB) y *Pseudomonas* spp. (PS) productoras de carbapenemasa (CBP). CZA es una combinación de ß-lactámico/inhibidor de ß-lactamasa de 2º generación capaz de inhibir CBP de Clase A (KPC), Clase C (AmpC) y Clase D (familia OXA-48), pero no de Clase B (MBL), por lo que cobra relevancia la diferenciación entre los tipos de CBP presentes en los aislamientos clínicos de ETB y PS. Adicionalmente, se incluyó *Acinetobacter* spp. (AC) en este estudio. El objetivo de este trabajo fue diseñar una PCR múltiple para detectar en simultáneo los genes de CBP más frecuentes de Argentina: *bla*KPC (KPC), *bla*OXA-48-like (O48L), *bla*VIM (VIM), *bla*IMP (IMP) y *bla*NDM (NDM).

Materiales y Métodos: Se utilizaron 105 aislamientos clínicos [75 Enterobacterias (ETB), 20 *Pseudomonas* spp. (PS) y 10 *Acinetobacter* spp. (AC)]: 90 productores de CBP y 15 no productores de CBP. El extracto de ADN se obtuvo por calentamiento (10 min. a 100ºC) de una suspensión de colonias en agua bidestilada y posterior centrifugación a 12000 G por 5 min. La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 50 uL, en diferentes condiciones, modificando la temperatura de pegado y concentracion de los cebadores. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en un gel de agarosa 1% teñido con bromuro de etidio. Los productos de PCR se secuenciaron por el método de Sanger.

Resultados: Las condiciones óptimas para la reacción fueron: 50 mM de KCl, 20 mM de Tris-HCl (pH: 8,4), 1,5 mM de MgCl2, 0,2 mM de cada deoxinucleótido trifosfato, 0,4 U/ul Taq-DNA polimerasa, 0,2 uM de cada cebador para O48L, NDM y VIM; 0,4 uM de cada cebador para KPC y 0,48 uM de cada cebador para IMP. Se utilizaron 5 ul del extracto de ADN como templado. Condiciones de ciclado: 5 min. a 95°C, 35 ciclos de 30 seg. a 95°C, 30 seg. a 54°C y 60 seg. a 72°C, con un paso final de 10 min. a 72°C. En 88/90 aislamientos portadores de CBP se obtuvo la amplificación del tamaño esperado (10/10 VIM, 10/10 IMP, 24/26 NDM, 16/16 KPC, 10/10 O48L, 2/2 KPC+O48L, 4/4 KPC+NDM, 8/8 O48L+NDM, 3/3 NDM+IMP, 1/1 O48L+VIM). En 2/26 cepas portadoras de NDM se obtuvo una amplificación inespecífica adicional del tamaño correspondiente a VIM. En 14/15 aislamientos no portadores de CBP no se obtuvo amplificación, en el restante se obtuvo una amplificación inespecífica del tamaño correspondiente a VIM. La sensibilidad (S) y especificidad (E) global fue 100% y 99% respectivamente y por mecanismo: 100% S y E para KPC, OXA-48-like, NDM e IMP y 100% S y 96% E para VIM.

Conclusiones: La PCR múltiple permitió detectar en simultáneo KPC, O48L, NDM, IMP y VIM en aislamientos clínicos de ETB, PS y AC. Esta PCR múltiple permitirá a los laboratorios clínicos la caracterización de las CBP prevalentes de Argentina, la detección de aislamientos portadores de más de una CBP y desestimar el uso de CZA en ETB y PS productoras de MBL.

Oral MI 4

0520 - IMPLEMENTACIÓN DE LA SECUENCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO PARA LA VIGILANCIA DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN ARGENTINA

CARBONARI, Claudia Carolina | CAMPOS, Josefina | MILIWEBSKY, Elizabeth | ZOLEZZI, Gisela | DEZA, Natalia | POKLEPOVICH, Tomás | MANFREDI, Eduardo | BASCHKIER, Ariela | PUTZOLU, Karina | **CHINEN, Isabel** | RIVAS, Marta

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Las enfermedades asociadas a *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) son de gran preocupación en Argentina. *E.coli*O157:H7 y O145:NM representan los serotipos predominantes. El síndrome urémico hemolítico (SUH) post-diarreico es endémico en Argentina, siendo el país de mayor incidencia a nivel mundial (~ 10 casos / 100.000 niños <5 años / año). La implementación de la secuenciación de genoma completo (SGC) representa una oportunidad para mejorar la vigilancia basada en laboratorio en el país. La SGC se implementó en el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) en el marco del Proyecto Piloto OMS-FDA, participando como laboratorio externo del GenomeTrakr. El objetivo del estudio fue evaluar un esquema de trabajo para el diagnóstico de rutina y el análisis de las secuencias obtenidas por SGC en el LNR utilizando un nuevo flujograma de análisis bioinformático.

Materiales y Métodos: Se analizaron un total de 94 cepas STEC O157 y no-O157. La SGC se realizó utilizando Qiacube (Qiagen) para la extracción de ADN y la plataforma MiSeq (Illumina, Inc) con lecturas de 2x250 pb para la secuenciación. Se siguieron los protocolos de Genome Trakr/NCBI para el monitoreo global (NCBI PRJNA282762). Para el análisis se utilizó el servidor ubicado en el INEI-ANLIS. El flujograma de trabajo propuesto incluye: la confirmación de la identificación del microorganismo (Kraken); la búsqueda de genes de resistencia y virulencia (SRST2 y ARIBA) con distintas bases de datos; la evaluación de la relación clonal a través de dos estrategias: análisis de Pangenoma (Roary) previo ensamblado (Unicycler) y anotación (Prokka), y mediante el mapeo contra referencia (SMALT 0.7.4) con bloqueo de zonas recombinantes (Gubbins). El estudio de clados de las cepas O157:H7 se realizó mediante PCR (Riordan, 2008) *in silico*, utilizando las secuencias genómicas.

Resultados: Los resultados del análisis de los genes de virulencia y serotipificación de 73 cepas STEC O157 y 21 cepas STEC no O157 (O145:H28, O121:H19, O103:H2, O26:H19, O91:NM, O8:H19, O113:H19 y O22:H-), obtenidos por SGC correlacionaron con los obtenidos por la metodología tradicional. Respecto de la relación clonal, el árbol de SNP (del inglés, Single Nucleotide Polimorphism) mostró una estrecha similitud entre las cepas asociadas a brotes en concordancia con el árbol obtenido por PFGE (del inglés, Pulsed Field Gel Electrophoresis). Las cepas del clado 8 pudieron ser identificadas, así como las del clado 3 y clado 4/5, mediante el análisis de las secuencias genómicas por PCR *in silico*.

Conclusiones: La implementación de SGC en el LNR representa un gran avance para dar respuesta a nivel nacional a situaciones de relevancia en Salud Pública. Cabe destacar la importancia de lo que significa consolidar el trabajo utilizando recursos informáticos y bioinformáticos institucionales propios, tanto para el análisis como para el almacenamiento de los datos de SGC, en el marco de la vigilancia global.

Oral MI 5

0739 - EPIDEMIOLOGIA DE LAS INFECCIONES INTRA-ABDOMINALES EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO: AGENTES ETIOLÓGICOS Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

BERTONA, Eugenia [1] | TISSOT, Carla[1] | LAVORATO, Pablo[2] | GUEVARA NUÑEZ, Daiana[1] | BENCHETRIT, Guillermo[3] | CESAR, Carina[3] | DE PAULIS, Adriana[1]

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MÉDICAS A. LANARI, UBA. [1]; AREA CLÍNICA MÉDICA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONE MÉDICAS A. LANARI. UBA [2]; AREA INFECTOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONE MÉDICAS A. LANARI. UBA [3]

Introducción y Objetivos: Las infecciones intraabdominales (IIA) son frecuentes y constituyen una causa importante de morbimortalidad. El tratamiento de elección incluye cirugía y tratamiento antibiótico empírico. El aumento de la resistencia bacteriana y la escasa información disponible en nuestro medio dificulta la elección del tratamiento antibiótico empírico adecuado (TEI). El objetivo fue determinar los principales agentes etiológicos en las IIA en nuestro hospital y evaluar los niveles de resistencia a los antimicrobianos recomendados.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo con las muestras del primer episodio de IIA de pacientes de un hospital universitario que atiende adultos mayores, entre enero 2016 y diciembre 2018. Se consideró como primer episodio a la infección presente al ingreso hospitalario o el primer episodio infeccioso luego de una cirugía abdominal por causa no infecciosa. Se definió como intrahospitalario (IH) a la infección ausente al ingreso y que se hace evidente >= 48 h después de la admisión o como complicación de un procedimiento abdominal previo. Se recolectaron datos clínicos y microbiológicos.

Resultados: Se estudiaron 50 episodios/pacientes, 28 (56%) sexo masculino, mediana de edad de 72 años (rango intercuartil 67-77). Se analizaron 16 líquidos biliares y 34 materiales abdominales: 31 (62%) polimicrobianos y 19 (38%) monomicrobianos. Se aislaron 100 microorganismos: *Escherichia coli* 31 (31%), Enterococcus spp 22 (22%), *Enterobacter* spp 10 (10%), *Klebsiella pneumoniae* 8 (8%), *Pseudomonas aeruginosa* 6 (6%), *Candida* spp 6 (6%), *Bacteroides* grupo *fragilis* 3 (3%), *Aeromonas* spp 2 (2 %) *Staphylococcus. aureus* 1 (1%) y otros 11 (11%). De las enterobacterias 17% (9/52) fueron productoras de BLEE, 6% (3/52) hiperproductoras de AMPc y 2% (1/52) *E. cloacae* con carbapenemasa tipo KPC. De 22 enterococos, solo 1 *E. faecium* con resistencia a vancomicina. La resistencia (R) a ampicilina/sulbactama (AMS) fue 50% (26/52), piperacilina/tazobactama (P/T) 14% (7/51), ciprofloxacina (CIP) 33% (20/60), gentamicina (GTA) 13% (7/54) y cefotaxima (CTX) 25% (13/52). Solo un aislado presentó resistencia a carbapenemes. No se encontraron diferencias significativas de R entre aislamientos IH y extrahospitalarias (EH) (R a AMS 55% vs 38%, R P/T 14% vs 13%, CIP 41% vs 26%, GTA 15% vs 11%, y CTX 23% vs 23%) o entre uso de antibióticos > o <48 h al momento de la toma de la muestra.

Conclusiones: Se observó un alto porcentaje de R a AMS y a CIP. Si bien la R a GTA fue baja, su uso como TEI asociado a metronidazol se dificulta en los pacientes añosos con alteración de la función renal de nuestra institución. De acuerdo a los % de R, P/T y CTX continúan siendo opciones adecuadas para realizar TEI Este estudio analiza muestras de IIA diversas en una población con patologías complejas. El subregistro de internaciones previas y uso de antibiótico previo al ingreso hospitalario y otros factores de riesgo podrían explicar la resistencia en las muestras extrahospitalarias.

Oral MI 6

0760 - RESISTENCIA A MUPIROCINA EN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ASOCIADA AL CLON CA-MRSA ST30-IVC, EN ARGENTINA.

BARCUDI, Danilo [1] | CORSO, Alejandra[2] | GAGETTI, Paula[2] | EGEA, Ana Lia[1] | BOCCO, José Luis[1] | GRUPO, Mrsa, Argentina[3] | SOLA, Claudia[1]

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN BIOQUÍMICA CLÍNICA (CIBICI-CONICET) [1]; SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INEI, ANLIS "MALBRÁN" [2]; HOSPITALES DE ARGENTINA [3]

Introducción y Objetivos: *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) representa un problema mundial tanto en los hospitales (HA-MRSA) como en la comunidad (CA-MRSA). Las infecciones, generalmente son de tipo endógenas y la colonización nasal es el principal reservorio. Mupirocina es ampliamente utilizado como agente tópico para reducir la portación nasal de MRSA en pacientes y el personal del hospital, inhibiendo la síntesis de proteínas mediante la unión a la isoleucil-ARNt sintetasa (IleRS). No existen datos concretos sobre la resistencia a mupirocina en Argentina. En abril de 2015 se efectuó un "Corte de Prevalencia Nacional de S. aureus", con el fin de establecer la prevalencia de infecciones por MRSA y los clones asociados. Se propuso analizar en aislamientos de MRSA obtenidos en dicho corte, la resistencia a mupirocina y su asociación con los distintos clones.

Materiales y Métodos: Se recolectaron 341 aislamientos consecutivos de MRSA, de 61 hospitales en 20 provincias y CABA. La sensibilidad a mupirocina por difusión en disco y CIM por E-test, Se interpretó de acuerdo

a los puntos de corte de la EUCAST, como S<=30, R <18 mm para el disco de 200µg y S<=1, R> 256 µg/mL, respectivamente. Las infecciones de inicio en la comunidad (CO)/de inicio en el hospital (HO) se definieron dependiendo si los MRSA se obtuvieron antes o después de las 48 horas de hospitalización. Las cepas de MRSA se tipificaron genéticamente como CA-MRSA y HA-MRSA por caracterización del SCCmec, spa-typing, PFGE y MLST, además se detectaron los genes pvl, mupA y mupB por PCR.

Resultados: Del total de MRSA (n: 341), la sensibilidad a mupirocina fue del 99.7% (340/341). Solo una (0.3%), presentó resistencia, detectada por difusión en disco y un valor de CIM>1024 µg/ml. En esta cepa, se detectó por PCR el gene *mupA*. Los MRSA se diferenciaron en los siguientes tipos clonales: 62,2% CA-ST30-IV (South-West Pacific); 13,8% CA-ST5-IV (CA-MRSA Arg); 7,0% HA-ST5-I (Cordobés); 5,3% CA-ST8-IV (USA300-LA); 4,4% HA-ST100-IVnv (Pediátrico); 3,5% CA-ST97-IV; 2,9% CA-ST72-IV y 0.9% otros. La resistencia de alto nivel a mupirocina fue asociada al clon CA-MRSA-ST30-IV. Fue un caso de infección de piel y partes blandas (celulitis), de tipo CO, en un paciente de 8 años. El mismo no había tenido contacto previo con el hospital y tampoco recibió tratamiento antibiótico en el año previo, sugiriendo una fuente exógena de transmisión.

Conclusiones: Si bien se detectó solo en un paciente del total analizado (0,3%), este resultado es de suma importancia epidemiológica debido, a que, por un lado la mupirocina es el antibiótico tópico más utilizado para erradicar la portación nasal de los pacientes colonizados y por el otro la resistencia, detectada en este estudio, está mediada por un plásmido asociada a un clon epidémico. Ambos factores facilitarían la diseminación de este mecanismo ante el uso indiscriminado de esta droga. Esta situación avala la vigilancia de esta resistencia para evitar su incremento en nuestro medio.

Oral MI 7

0860 - ACTIVIDAD IN VITRO DE CEFTAZIDIME AVIBACTAM Y CEFTOLOZANE TAZOBACTAM EN AISLAMIENTOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* RESISTENTES A CARBAPENEMES

NASTRO, Marcela | RODRIGUEZ, Carlos H | VAY, Carlos | FAMIGLIETTI, Angela

LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA, DTO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA, HOSPITAL DE CLINICAS JSM. FFYB.UBA

Introducción y Objetivos: Las infecciones causadas por aislamientos de *P. aeruginosa* con multi o extrema resistencia representan un desafío clínico. Ceftazime-avibactam (CAZ/AVI) y ceftolozane-tazobactam (C-T) surgieron como alternativas y fueron aprobadas para el tratamiento de infecciones urinarias y abdominales complicadas y en el caso de CAZ/AVI para neumonías intrahospitalarias. Objetivo: Determinar la actividad in vitro de CAZ/AVI y C-T en aislamientos de P. aeruginosa resistentes a carbapenemes.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 50 aislamientos de *P. aeruginosa* de colección y pertenecientes a pacientes atendidos en el Hospital de Clínicas José de San Martin que presentaron resistencia a por lo menos 1 carbapenem. Se realizó la identificación por MALDITOF/ MS, BD y la susceptibilidad por sistema Phoenix, BD. CAZ/AVI y C-T se ensayaron por difusión en agar y mediante tiras de E-test (Liofilchem); para su interpretación se utilizaron las recomendaciones del CLSI 2019 (C-T) y Eucast 2019 (CAZ/AVI). Se realizó sinergia IMI-EDTA-MER para la detección de metalobetalactamas (MBL) y se confirmó la presencia de carbapenemasas mediante PCR con primers específicos.

Resultados: se observó la presencia de carbapenemasas en 17 aislamientos (enzimas de tipo MBL: 11 y KPC: 6), mientras que en los 33 aislamientos restantes el mecanismo de resistencia a los carbapenemes fue no enzimático (por alteración en porinas y/o bombas de eflujo). Los porcentajes de resistencia los antibióticos β-lactamicos fueron: CAZ: 75%, FEP: 80%, PTZ: 93%, AZM: 88%, IMI: 96%, MER: 98%, CAZ/AVI: 19% y C-T: 38%. Los aislamientos resistentes a CAZ/AVI fueron productores de MBL [6] y resistentes por mecanismo no enzimático [1]; mientras que los resistentes a C-T fueron: KPC positivos: 6, MBL positivos: 7 y resistentes por mecanismo no enzimático: 5. En los aislamientos resistentes a PTZ se observó que el 55% mantuvo sensibilidad a CAZ/AVI y el 62% a C-T; en los resistentes a CAZ, el 54% fue sensible a CAZ/AVI y el 57% a C-T, mientras que en los resistentes a carbapenemes el porcentaje de sensibilidad a ambos nuevos antimicrobianos fue del 57%.

Conclusiones: 1- CAZ/AVI presenta excelente actividad frente a aislamientos productores de KPC. 2- C-T presenta muy buena actividad cuando la resistencia a carbapenemes es no enzimática, siendo el antimicrobiano β- lactamico más activo en aislamientos resistentes a PTZ y CAZ.

Oral MI 8

0714 - MICROEVOLUCIÓN DE UNA CEPA DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MULTIRRESISTENTE EN UN MISMO HOSPEDADOR

MONTESERIN, Johana [1] | FERNANDEZ DO PORTO, Dario[2] | VESCOVO, Marisa[3] | MATTEO, Mario[4] | BENEVENTO FERNANDEZ, Andres[2] | YOKOBORI, Noemi[1]| CAMPOS, Josefina[5] | SIMBOLI, Norberto[5] | PAUL, Roxana[5] | LOPEZ, Beatriz[5] | TURJANSKI, Adrian[2] | RITACCO, Viviana[1]

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"/CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [1]; PLATAFORMA DE BIOINFORMÁTICA ARGENTINA/DPTO. QCA BIOLÒGICA, FAC. CS EXACTAS Y NATURALES, UBA [2]; INSTITUTO VACCAREZZA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [3]; LABORATORIO CENTRÁNGOLO, INSTITUTO VACCAREZZA/HOSPITAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS "DR. F.J. MUÑIZ" [4]; INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [5]

Introducción y Objetivos: La diversidad de las cepas de *M. tuberculosis* dentro de un mismo paciente es conocida pero no totalmente comprendida. Las técnicas tradicionales de genotipificación permiten distinguir recaídas, reinfecciones o infecciones mixtas mientras que la secuenciación genómica masiva (SGM) permite profundizar acerca de las variantes clonales. La presencia de alelos minoritarios puede ser un buen indicador de diversidad. El objetivo de este trabajo es explorar la microevoluciónen 8 aislamientos seriados de un mismo paciente con tuberculosis (TB) multirresistentey adherencia inadecuada al tratamiento en un período de 5 años.

Materiales y Métodos: Realizamos la SGM en INEI ANLIS. Empleamos el software BWA-MEM para mapear las lecturas obtenidas contra la cepa de referencia H37Rv ($NC_{000962.3}$) y el softwareGATK para el llamado de variantes aplicando diferentes parámetros respecto a los análisis realizados.Anotamos las variantes con SnpEffy las cruzamos con la base de datos de resistencia desarrollada in house.Construimos el árbol filogenético con el softwareRAxML en el contexto de una colección global de genomas de *M. tuberculosis*.

Resultados: Hubo correlación perfecta entre las pruebas fenotípicas de sensibilidad a drogas y la predicción genómica de la resistencia. El análisis filogenético global por SGM mostróque los aislamientos pertenecen al clado único 4.1.1. A pesar de esta consistencia monofilética, emergieron 26SNPs (single nucleotidpolymorphisms) en el transcurso de 56 meses de tratamiento anti-TB. Veinte fueron transitorios, entre ellos, pks6 y Rv2864c (síntesis de la pared celular), urvB(reparación del ADN), Rv2699c(supervivencia en microaerofilia). Solo 6 se fijaron en la población bacilar, incluidos 2 relacionados con resistencia:gyrA D94H que confiere resistencia a fluroquinolonas, cambiando el estatus de la cepa a pre-extremadamente resistente; y pncAThr177fs que confiere resistencia a pirazinamida. Los últimos 2 aislamientos presentaron un cambio en el marco de lectura en el gen Rv0678 (N47fs), mutación vinculada con bajos niveles de resistencia a bedaquilina.En 7/8 aislamientos la variabilidad fue baja (1-5 SNPs). Un solo aislamiento, obtenido luego de un abandono transitorio del tratamiento,presentó mayor diversidad(13 SNPs).

Conclusiones: Concluimos que la variabilidad existente entre los distintos aislamientos a lo largo del tratamiento es mayor que lo que reflejan los clones predominantes. Este fenómeno podría tener implicancias sobre la respuesta clínica a la terapia anti-TB.A su vez, la interrupción del tratamiento parece exacerbar la diversidad clonal, lo cual también podría reducir las opciones terapéuticas. Financiación: Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnológica PICT-2016-3219.

Pósters

Presentación de pósters CAM 1

Miercoles 25 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

CAM – Antimicrobianos

MI 001

0068 - INCIDENCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINO RESISTENTE EN MUESTRAS DE HEMOCULTIVOS

RUBINSTEIN, Gabriela [1] | SIRVENT, Julia[1] | WILGENHOFF, Lorena[2] | PARSONS, Graciela[2]

HOSPITAL PRIVADO REGIONAL/ SANATORIO SAN CARLOS [1]; SANATORIO SAN CARLOS BARILOCHE [2]

Introducción y Objetivos: Las bacteriemias por *Staphylococcus aureus*(SA) tienen una alta morbilidad y mortalidad pudiendo causar infecciones metastásicas, endocarditis y sepsis. La incidencia de infecciones debidas a SA meticilino resistentes (SAMR) ha aumentado a nivel mundial presentando mayores tasas de morbi-mortalidad y hospitalizaciones más prolongadas. Esta incidencia difiere en las diferentes regiones geográficas por lo que se recomienda realizar vigilancia de la misma localmente para contribuir con la correcta

elección de los tratamientos empíricos. Nuestro objetivo fué evaluar la incidencia de SAMR obtenidos de muestras de hemocultivos en Bariloche durante el periodo 2014-2018.

Materiales y Métodos: Entre enero 2014 y diciembre 2018 fueron aislados SA de hemocultivos provenientes de 72 pacientes con un rango etario de 0 a 93 años (media=56, mediana=62). 44 correspondieron a infecciones de origen nosocomial y 28 de origen ambulatorio . La identificación fue realizada por métodos manuales y la sensibilidad a oxacilina (OXA), eritromicina (ERI), clindamicina (CLI), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), ciprofloxacina (CIP), rifampicina (RIF), tetraciclina (TET) y gentamicina (GEN) se determinó por el método de difusión en medio sólido según las normas del CLSI.

Resultados: Las bacteriemias fueron asociadas principalmente a infecciones de piel y partes blandas, osteo-articulares, de catéteres y respiratorias. La proporción de SAMR en todo el período fue del 11% (8% en 2014, 19% en 2015, 22% en 2016, 6% en 2017 y 6% en 2018). Las diferencias interanuales no fueron significativas, pero si lo fueron las encontradas al comparar la frecuencia de SAMR según el origen nosocomial o ambulatorio de la infección, 5% y 21% respectivamente ($chi^2=4.94$,$p=0,026$). De los 6 aislamientos SAMR asociados a infecciones de la comunidad 5 fueron resistentes solo a OXA y uno presentó resistencia asociada a dos antibióticos no betalactámicos. Los SAMR de origen nosocomial fueron: el primero únicamente resistente a OXA y el segundo multi-resistente (a OXA, ERI, CLIN, CIP y GEN), antibiotipo idéntico al descripto para el clon epidémico chileno-cordobés. La resistencia global a los antimicrobianos no betalactámicos estudiados fue: ERI 29% , CLI 21% , CIP 10 % y GEN 6%. No se aislaron SA resistentes a TMS, TET ni RIF.

Conclusiones: El porcentaje de SAMR aislados de hemocultivos fue menor al obtenido en otras regiones de Argentina para similares periodos y se asoció principalmente a infecciones adquiridas en la comunidad. Los valores hallados concuerdan con la menor incidencia de SAMR observada en estudios locales previos en otros tipos de muestras incluyendo infecciones de piel y partes blandas. Si bien las diferencias observadas entre los valores interanuales no fueron significativas, se obtuvieron menores valores de resistencia en los últimos dos años sugiriendo una menor circulación de clones SAMR invasivos. Los valores de resistencia a macrólidos fueron mayores a los encontrados en años previos.

MI 002

0071 - *ESCHERICHIA COLI* MULTIRRESISTENTES Y PRODUCTORES DE ß-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO, AISLADOS DEL RÍO DE LA PLATA, BERISSO

COSTA, Magdalena [1] | GALLI, Lucia[1] | NIEVAS, Victorio Fabio[2] | GIACOBONI, Gabriela Isabel[2] | BARRIOS, Melina E[3] | BLANCO FERNÁNDEZ, María Dolores[3]| MBAYED, Viviana[3] | MOREDO, Fabiana Alicia[2]

IGEVET-CONICET (FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS UNLP-CONICET) [1]; DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLP [2]; CATEDRA DE VIROLOGIA, FFYB, UBA - CONICET [3]

Introducción y Objetivos: La resistencia a los antibióticos se reconoce como una amenaza importante para la salud pública. Recientes recomendaciones del grupo asesor de la OMS para Vigilancia Integrada de la Resistencia a los Antimicrobianos (AGISAR), resolvió la ejecución del programa "Vigilancia de *E. coli*productor de BLEE; triciclo" (*E. coli* como bacteria indicadora de resistencia, la producción de ß-lactamasas como mecanismo de resistencia y los tres sectores que son humanos, productos de origen animal de la cadena alimenticia y el ambiente). El objetivo fue determinar la presencia de *E. coli* productores de BLEE en aguas del Río de la Plata del partido de Berisso, Buenos Aires.

Materiales y Métodos: Durante los meses de diciembre de 2018, enero y febrero de 2019, se tomaron 5 muestras semanales del Río de la Plata a la altura de las playas Bagliardi [2], La Balandra [2] y en la zona de la desembocadura del efluente de la planta de tratamiento de agua; se sembraron en CTS y luego se repicaron en agar MacConkey adicionado con 4 µg/ml de CTX. Se seleccionaron tres colonias lactosa positivas por placa y se repicaron en ATS. Las enterobacterias aisladas se identificaron con pruebas bioquímicas tradicionales. Se determinó el comportamiento de *E. coli* frente a 20 antimicrobianos según CLSI-M100S (27ª ed), método de difusión. La sensibilidad a colistina se evaluó por el método de agar spot (3 µg/ml). La detección de los genes *blaCTX-M* y *mcr-1* se realizó por PCR descriptas por otros autores. La identificación genotípica de especie y los 6 patotipos diarreigénicos de *E. coli* se determinaron con una PCR múltiple.

Resultados: De las 49 muestras procesadas se obtuvieron: 54 *E. coli*, 1 *Klebsiella oxytoca*, 15 *K. pneumoniae*, 3 *Citrobacter freundii* y 1 *Enterobacter aerogenes*. Para el estudio de resistencia se seleccionaron 30 *E. coli*, uno por muestra: 13 de la zona de la playa La Balandra, 11 de Bagliardi y 6 del efluente. Ninguno fue diarreigénico. El total mostró ser sensible a los carbapenemes (ERT, IMI, MRP), amicacina, fosfomicina y nitrofurantoína. La no sensibilidad fue (%) ác. nalidíxico (76,7), ciprofloxacina (73,3), tigeciclina (63,3), tetraciclina (43,3), gentamicina (26,7), amoxicilina/ác. clavulánico (30), piperazilina/tazobactam (20). 3 *E. coli* también mostraron resistencia a FOX y AMC, expresando otros mecanismo de resistencia diferente a la producción de BLEE; de éstos, uno fue resistente PTZ. De los 30 *E. coli*, 29 (97 %) fueron multirresistentes (37 % a 4 grupos de antimicrobianos, 20 % a 5, 23 % a 3, 7 % a 6 y 7 respectivamente y 3 % a 9). Cabe destacar que dos aislamientos mostraron resistencia a colistina y portaron los genes *blaCTX-M* y *mcr-1*. Genotípicamente, 25 *E. coli* portaron el gen *blaCTX-M*.

Conclusiones: El agua del Río de La Plata puede considerarse como un reservorio de *E. coli* multirresistentes productores de BLEE, hecho que puede ser interpretado como indicador de las consecuencias ambientales del uso irracional de antibióticos en prácticas médicas, humanas y veterinarias.

MI 003

0074 - ENTEROCOCOS: PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, RED WHONET - ARGENTINA

GAGETTI, Paula | MENOCAL, Maria Alejandra | LUCERO, Maria Celeste | PASTERAN, Fernando | TUDURI, Ezequiel | DE MENDIETA, Juan Manuel | RED WHONET, Argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Los enterococos son importantes patógenos nosocomiales debido a su resistencia intrínseca y a su facilidad para adquirir nuevos mecanismos de resistencia. Aunque cerca del 80% de las infecciones producidas por enterococo en Argentina son causadas por *Enterococcus faecalis* (Efa), *E. faecium* (Efm) es el segundo en frecuencia y el que más se asocia a resistencia a múltiples antibióticos (MDR). La MDR observada en Efm a nivel global se ha relacionado a la expansión del complejo clonal 17 (CC17) de gran adaptación al medio hospitalario. El objetivo de este trabajo fue reportar el perfil de sensibilidad a los antimicrobianos (ATM) en aislamientos de *E. faecalis* (Efa) y *E. faecium* (Efm) provenientes de infecciones intrahospitalarias de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET- Argentina en el período 2010-2017.

Materiales y Métodos: Se analizaron 17105 aislamientos de Efa y 5069 de Efm, recuperados de episodios de infección (1 por paciente), de 89 instituciones de salud distribuidas en 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM se evaluó por el método de difusión con discos y/o automatizados e interpretó según CLSI 2018, excepto para tigeciclina, que se interpretó según puntos de corte del FDA. Los datos se analizaron con el software WHONET5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (NS) (%I+%R). Se consideran estadísticamente significativas las diferencias que presenten $p<0,05$ (Test de Fisher).

Resultados: El 55% de los Efa y 44% de los Efm fueron recuperados de muestras de orina, seguido por sangre (21% Efa y 24% Efm), y en menor proporción infecciones intraabdominales y pélvicas y muestras de herida quirúrgica. Los % NS 2010-2017 para Efa/Efm fueron: ampicilina 0/86; estreptomicina alto nivel 19/38,7; gentamicina alto nivel 30,9/15,7; vancomicina 2,8/60,7; teicoplanina 1,4/59,6. Tanto en Efa como en Efm se observó disminución significativa ($p<0,05$) en los % de NS a GEH y STH entre 2010 y 2017. Considerando Efm resistente a vancomicina, el % NS en 2016-17 fue: para estreptomicina y gentamicina de alto nivel 46,2 y 24,1; nitrofurantoina 73,1; tetraciclina 56,1; minociclina 47,4; daptomicina 6,2; linezolid 3,2 y tigeciclina 3. El fenotipo de resistencia a glucopéptidos VanA (NS-vancomicina y teicoplanina) representó 50% para Efa y 96% para Efm.

Conclusiones: Los % de NS se mantuvieron estables durante los últimos años tanto para Efa como para Efm, excepto para gentamicina y estreptomicina donde se observó disminución significativa entre 2010 y 2017. También se observó disminución de NS a gentamicina y estreptomicina en Efm resistente a vancomicina. En el caso de Efm resistente a vancomicina, daptomicina, linezolid y tigeciclina son entre los antibióticos ensayados, los que mostraron mejor actividad in vitro. La vigilancia contínua de la resistencia a los ATM es de vital importancia para monitorear la epidemiología de los gérmenes resistentes y optimizar los tratamientos empíricos.

MI 004

0101 - *PSEUDOMONAS ASIATICA* Y *PSEUDOMONAS MONTEILII* PRODUCTORAS DE VIM-2: TAXONOMÍA MOLECULAR Y PLATAFORMA GENÉTICA DE RESISTENCIA

MARCHIARO, Patricia [1] | BROVEDAN, Marco[1] | DÍAZ, María Susana[1] | PEREZ, Jorgelina[2] | LARINI, Silvia[2] | VIALE, Alejandro[1] | LIMANSKY, Adriana[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) [1]; LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA (FCBYF, UNR), HOSPITAL PROVINCIAL CENTENARIO [2]

Introducción y Objetivos: *Pseudomonas* grupo *putida* incluyen numerosas especies ambientales, que suelen ser patógenas oportunistas para el hombre. Algunas cepas exhiben resistencia (R) a múltiples antimicrobianos incluyendo la producción de metalo-ß-lactamasas (MßLs), siendo este un mecanismo de R de implicancia epidemiológica. Los objetivos fueron identificar taxonómicamente 2 aislamientos clínicos tipificados inicialmente como *P. putida*; y evaluar comparativamente sus plataformas portadoras de MßLs, con otras caracterizadas previamente en especies del grupo.

Materiales y Métodos: Se incluyeron 2 aislamientos clínicos de *P. putida* (según VITEK-2C) de pacientes internados en 2017, productores de MßL. La identificación basada en la filogenia de secuencias concatenadas de *gyrB* y *rpoD* incluyó secuencias de aislamientos caracterizados previamente en nuestro laboratorio (n: 13), y cepas tipo (n: 19). La relación clonal entre aislamientos de cada especie se efectuó mediante PCR con oligonucleótidos degenerados. El gen codificante de MßL y su entorno fueron identificados mediante PCR/secuenciación; y la localización genómica mediante ensayos de transferencia de ADN.

Resultados: La evaluación de los marcadores taxonómicos 16S RNA, *gyrB* y *rpoD*, *versus gyrB* y *rpoD* mostró concordancia. Estos últimos permitieron identificar los 2 aislamientos como *P. asiatica*, *P.a* y *P. monteilii*, *P.m*. La identidad clonal de cada aislamiento con cepas adicionales de cada especie mostró 3 clones para *P.a* (P.a1 y P.a2 de la colección de cepas; y P.a3 del nuevo aislamiento); mientras que 2 clones diferentes para *P.m* (P.m1 de una cepa de colección; y P.m2 para otra cepa de colección y el aislamiento aquí incluido). El análisis mostró que P.a3 y P.m2 estudiados aquí contienen bla_{VIM-2}, en un integrón clase 1 clásico (In/C) en P.a3, mientras que un integrón inusual (In/I) incompleto en su módulo de transposición en P.m2. La comparación de las plataformas con bla_{VIM-2} en los 3 clones de *P.a* mostró diversidad de arreglos, dado que P.a1 y P.a2 contienen In/I completos (Tn6335 y Tn6336, respectivamente), sólo diferentes en un casete de R; y de localización plasmídica. Por su parte, P.a3 contiene bla_{VIM-2} en un In/C de probable localización cromosomal según ensayos de transferencia. Similar análisis mostró el Tn6335 para P.m1, e idéntico In/I incompleto (con región variable diferente al del clon P.m1) para ambos aislamientos del clon P.m2; en todos los casos de portación cromosomal.

Conclusiones: Así, especies de *P.* grupo *putida* muestran diversidad de plataformas con bla_{VIM-2}: In clásicos como inusuales, en clones de *P.a*; mientras que In/I, completos o incompletos, en *P.m*. La observación del Tn6335 en P.a1 (en plásmido) y en P.m1 (en cromosoma) sugiere eventos de transferencia horizontal de bla_{VIM-2} entre diferentes especies. Estos resultados agregan evidencia de que este grupo constituye un reservorio de genes R y sugieren un dinámico intercambio de bla_{VIM-2} entre diferentes especies del mismo.´

MI 005

0126 - ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIBIOFILM DE ACEITES ESENCIALES SOBRE *SALMONELLA* ENTERITIDIS Y *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

MARTINEZ ALVAREZ, Lady Caterine | ZAFRA, German | ORTIZ, Claudia

GIBIM. ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

Introducción y Objetivos: El aumento de la resistencia a los antibióticos convencionales representa una problemática importante para la salud pública a nivel mundial; *Salmonella* Enteritidis y *Pseudomonas aeruginosa* constituyen bacterias resistentes con gran impacto en la industria alimenticia y en el área clínica. Sumado a lo anterior, poseen la capacidad de formar *biofilm*; un estado de agregación bacteriana que favorece el desarrollo de resistencia al disminuir la permeabilidad de fármacos, entre otros mecanismos de protección. Por otro lado, se ha demostrado actividad antimicrobiana de diferentes aceites esenciales frente a diferentes patógenos, lo que les convierte en agentes con potencial uso terapéutico. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de Aceites Esenciales (AE) de *Rosmarinus officinalis*, *Lippia origanoides* Carvacrol, y *Thymus vulgaris* sobre el crecimiento y formación de *biofilm* por *S.*Enteritidis ATCC 13076 y *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Materiales y Métodos: Para los ensayos, se prepararon preinóculos de cada bacteria conteniendo ~10^8 UFC/mL en medio Luria Bertani y M63 para *P. aeruginosa* y *S.* Enteritidis, respectivamente. Posteriormente, se realizó la evaluación del efecto los AE utilizando diferentes concentraciones (1.5 mg/mL, 0.75 mg/mL, 0.37 mg/mL y 0.18 mg/mL), mediante la técnica de microdilución en caldo usando microplacas de fondo plano Nunclon Delta Surface, D.O. 595 nm y lector de absorbancia ELISA IMARK de BIO-RAD. Posteriormente, se determinó el efecto antibiofilm de los AE mediante microscopía electrónica de barrido y colorimetría de cristal violeta (técnica descrita por O'Toole 2011) usando microplacas de PVC de 96 pozos con fondo en U para favorecer la adherencia de los microorganismos. El análisis estadístico de los datos se apoyó en una ANOVA multivariable con una significancia estadística de $p < 0.05$.

Resultados: Los resultados evidenciaron el efecto antimicrobiano de los AE de *T. vulgaris* y *L. origanoides* Carvacrol sobre el crecimiento y la formación de *biofilm* de *P. aeruginosa* y *S.* Enteritidis, en ~ 70%, empleando una concentración de 0,75 mg/mL. En el caso del AE de *R. officinalis*, se evidenciaron ambos efectos frente a una concentración de 1.5 mg/mL, lo cual no descarta una mejor actividad a menores concentraciones sobre otro tipo de microorganismos patógenos formadores de *biofilm*.

Conclusiones: En conclusión, el estudio de extractos y aceites esenciales de *T. vulgaris* y *L. origanoides* Carvacrol representan una alternativa para el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos, enfocados hacia el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos patógenos formadores de *biofilm* como *S.* Enteritidis y *P. aeruginosa*.

MI 006

0132 - BIOACTIVOS CON PROPIEDADES ANTIPATÓGENICAS OBTENIDOS A PARTIR DE FRACCIONES SUBUTILIZADAS DE VEGETALES: ALTERNATIVAS AL USO DE ANTIBIÓTICOS

PELLEGRINI, María Celeste | PONCE, Alejandra

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA, FACULTAD DE INGENIERÍA, INCITAA

Introducción y Objetivos: La resistencia antibiótica es un problema mundial que reduce la eficiencia de los antibióticos en el tratamiento de bacterias patógenas por lo que es necesario el desarrollo de una nueva estrategia terapéutica. El quorum sensing es un mecanismo por el cual las bacterias se comunican respondiendo a la densidad poblacional y esto les permite desarrollar comportamientos cooperativos como la formación de biofilms. Si la comunicación entre bacterias patógenas puede bloquearse con el uso de sustancias naturales bioactivas, entonces puede inhibirse su capacidad de virulencia. El objetivo de este trabajo fue analizar la actividad anti-oxidante, antimicrobiana, anti-quorum sensing y anti-biofilm de diferentes bioactivos extraídos a partir de las partes vegetales subutilizadas de Allium porrum (puerro) y Beta vulgaris (remolacha).

Materiales y Métodos: Se realizaron extractos etanólicos de hojas de puerro y remolacha previamente deshidratadas. La actividad antioxidante se cuantificó con el reactivo DPPH y la concentración de polifenoles por el método de Folin–Ciocalteu. La actividad antimicrobiana se estudió sobre Escherichia coli por microdilución, la actividad anti-quorum sensing se midió utilizando al indicador Chromobacterium violaceum y la anti-biofilm cuantificando las células bacterianas adheridas al tubo de cultivo.

Resultados: Los extractos etanólicos de remolacha mostraron actividad antioxidante significativa (50.87 mg / Trolox 100 g peso seco) y una alta concentración de polifenoles (508.85 mg ácido gálico / 100 g peso seco). Los extractos de puerro presentaron actividad antimicrobiana (CIM= 35.83% p / v), actividad anti quorum sensing (5.38% p / v) y capacidad anti biofilm (26.87% p / v).

Conclusiones: El uso de bioactivos extraídos de porciones subutilizadas de diferentes vegetales como sustancias antipatogénicas se propone como una alternativa al uso de antimicrobianos tradicionales. Es importante explorar nuevos tratamientos que controlen la ocurrencia de enfermedades asociadas a microorganismos patógenos, y además que prioricen aquellos métodos que eviten los efectos negativos sobre la salud de los consumidores o el medio ambiente.

MI 007

0136 - ACTIVIDAD *IN VITRO* DE FOSFOMICINA FRENTE A AISLAMIENTOS DE ENTEROBACTERIAS PROVENIENTES DE MUESTRAS DE ANIMALES DE COMPAÑÍA

BALCAZA, José Alexander[1] | KURZ, Ingrid[1] | MACÍN, Cristela Itatí[1] | MOSQUERA, María Silena[1] | AMABLE, Valeria Ines[2] | LÖSCH, Liliana Silvina[1] | **MERINO, Luis Antonio** [3]

FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [2]; INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [3]

Introducción y Objetivos: La vigilancia de la resistencia antimicrobiana es una herramienta inestimable para entender la epidemiología de su diseminación y asegurar una información exacta que permita establecer y modificar pautas del tratamiento. Con el propósito de contribuir a la vigilancia de la resistencia antimicrobiana desde la perspectiva de "Una Salud" planteada por la organización Mundial de la Salud, para el presente trabajo se estableció el objetivo de detectar la presencia de enterobacterias resistentes a fosfomicina (FOS) en muestras de animales de compañía en la Ciudad de Corrientes.

Materiales y Métodos: Para ello se utilizó un diseño observacional descriptivo con recolección prospectiva de datos. Las variables estudiadas fueron tipo de muestra, género y especies bacterianas y susceptibilidad a FOS. Se estudiaron secuencialmente muestras clínicas de animales de compañía que concurrieron a una clínica veterinaria de la ciudad de Corrientes. Todas las muestras fueron sembradas en Agar Mac Conkey conteniendo discos de FOS (50 µg). Luego de incubar los medios sembrados a 35ºC durante 24 hs, se reaislaron aquellas colonias que desarrollaron dentro de los 12 mm de diámetro con respecto a cada disco de antimicrobiano. A cada uno de estos reaislamientos se los identificó bioquímicamente y se confirmó la sensibilidad a FOS mediante la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por microdilución en caldo mediante el sistema Sensititre (Thermo Scientific^{MR}). Se consideraron sensibles a los aislamientos que presentaron CIMs menores a 32 µg/ml y resistentes a los que presentaron CIMs mayores a 64 µg/ml. No se incluyeron en el presente estudio aquellos aislamientos con resistencia intrínseca a FOS.

Resultados: Se estudiaron 20 muestras clínicas de animales de compañía (17 perros y 3 gatos) de la ciudad de Corrientes, distribuidas de la siguiente manera: exudado ótico [7], orina [4], lesión en piel [3], secreción genital [3], secreción nasal [1], líquido cefalorraquídeo [1] y absceso [1]. Las especies recuperadas fueron *Proteus mirabilis* [10], *Escherichia coli* [7], *Klebsiella pneumoniae* [2] y *Proteus vugaris* [1]. Se recuperó solamente 1 aislamiento resistente a FOS, correspondiente a *P. vulgaris*. La muestra involucrada era un hisopado de lesión de piel proveniente de un canino.

Conclusiones: Puede concluirse que aunque el número de aislamientos resistentes a FOS encontrado es bajo, su sola presencia debe alertar sobre la posible transmisión de este tipo de bacterias desde una mascota a sus dueños.

MI 008

0145 - INHIBICIÓN DEL ESTABLECIMIENTO DE BIOPELÍCULAS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SOBRE PINTURAS AL AGUA ADITIVADAS CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA

BARBERIA ROQUE, Leyanet | VIERA, Marisa | BELLOTTI, Natalia

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN TECNOLOGÍA DE PINTURAS (CONICET-CICPBA-UNLP)

Introducción y Objetivos: La mayoría de los estudios en el campo del biodeterioro de pinturas y recubrimientos se refieren al efecto de hongos filamentosos. No obstante, también es alarmante la presencia de bacterias y otros microorganismos. Los recubrimientos, mayoritariamente orgánicos, sobre las paredes de interiores se encuentran bajo el influjo de elevadas concentraciones de inóculo bacteriano y condiciones de humedad relativa y temperatura estable, así como cierta disponibilidad de nutrientes que favorecen su proliferación en biopelículas. Este tipo de crecimiento confiere entre otras características tolerancia frente a los aditivos antimicrobianos presentes en las pinturas.

Materiales y Métodos: Las nanopartículas se obtuvieron por el método de síntesis verde a partir de solución de nitrato de plata 10-2 M y extracto acuoso de las hojas de *Senna occidentalis* y *Equisetum giganteum*. Las bacterias empleadas para los ensayos fueron *E. coli* (ATCC 11229), y *S. aureus*(ATCC 6538) recomendadas para su uso en la evaluación de biocidas y ensayos de recubrimientos respectivamente, con probada capacida de formación de biopelículas y potencialmente patógenas de animales y humanos. Posteriormente, se formuló una pintura acrílica de base acuosa a la cual se le agregaron diferentes concentraciones de las suspensiones de nanopartículas (10, 15, 25 mg de Ag/100g de pintura), sustituyendo con estas el agua de la formulación. Se indujo la formación de biopelículas sobre las pinturas en orientación vertical en un ensayo "in vitro" en policubetas durante 72h a 30ºC en medio LB en agitación constante, mimetizando un esquema de alimentación estéril cada 18h teniendo en cuenta los ciclos de vida de ambas bacterias. Las muestras se lavaron tres veces con PBS, se fijaron y deshidrataron.

Resultados: Se constató el establecimiento de las biopelículas sobre una pintura sin aditivar, bajo estas condiciones mediante tinción con cristal violeta y microscopía electrónica de barrido (MEB) en su modalidad de alto vacío. Mediante estas técnicas se analizó la formación de biopelículas sobre el resto de las pinturas. A concentraciones 10, 15mg de Ag/100g de pintura, se observó menor inhibición, aunque se observaron grupos de bacterias adheridas a la superficie, lo cual corresponde con los primeros estadíos de formación de biopelículas, tanto puras como mixtas. Las pinturas aditivadas con 25mg de Ag/100g inhibieron completamente el establecimiento de la biopelícula de ambas bacterias.

Conclusiones: Se concluye que el grado de desarrollo de las biopelículas es inversamente proporcional a la concentración de nanopartículas en la pintura, sugiriendo que la efectividad de estas(100% de inhibición) es fuertemente dependiente de su concentración.

MI 009

0171 - EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE ACEITES ESENCIALES PARA SU APLICACIÓN EN RECUBRIMIENTOS

GÁMEZ-ESPINOSA, Erasmo | BARBERIA ROQUE, Leyanet | DEYÁ, Cecilia | BELLOTTI, Natalia

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN TECNOLOGÌA DE PINTURAS (CONICET-CICPBA-UNLP)

Introducción y Objetivos: El mantenimiento de materiales estructurales tiene un alto costo por lo tanto es necesario prevenir su deterioro. El uso de productos naturales, que controlen el desarrollo de biopelículas deteriorantes, se presenta como una solución posible que muestra ventajas desde el punto de vista económico y medioambiental. En tal sentido, los aceites esenciales se consideran una opción promisoria. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Thymus masticina* (AET)

y *Mentha* sp. (AEM) frente a las cepas *Aspergillus versicolor* MG725821 y *Cladosporium cladosporioides* MG731215 para su potencial uso en recubrimientos bioactivos.

Materiales y Métodos: Las cepas fueron aisladas, en un trabajo previo, de fachadas biodeterioradas y los aceites esenciales (AE) adquiridos de forma comercial. La evaluación de la actividad antifúngica se realizó analizando el efecto sobre el crecimiento radial del micelio. En placas de Petri con Agar Extracto de Malta (MEA) y diferentes concentraciones de los AE: 0,3; 0,6; 1,2; 2,5 y 5,0 mg/mL, se inocularon 20 µL de solución de 10^5 esporas/mL. Las placas fueron incubadas a 28°C durante 15 días y cada dos días se midió el diámetro de las colonias. Cada ensayo se realizó por triplicado, se calculó en cada caso el diámetro promedio y la desviación estándar correspondiente. Además, se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento al finalizar el ensayo.

Resultados: No se observó crecimiento de *A. versicolor* cuando estuvo expuesto a la mayor concentración del AEM (5,0 mg/mL) y a una concentración intermedia de AET (0,6 mg/mL). En el caso de *C. cladosporioides*, frente a AEM el crecimiento fue inhibido a partir de 2,5 mg/mL y empleando AET en todas las concentraciones estudiadas. Por lo tanto, con AET se obtuvo un 100% de inhibición del crecimiento micelial con concentraciones menores en relación a AEM frente a ambas cepas.

Conclusiones: Bajo este procedimiento, el AET resultó tener mejor potencialidad antifúngica para ser empleado en una siguiente etapa en la formulación de recubrimientos funcionales antifúngicos.

MI 010

0223 - RECONSTRUCCIÓN METABÓLICA DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* Y SU USO PARA LA PRIORIZACIÓN DE BLANCOS MOLECULARES

FEROLA, Eliana Belén | SERRAL, Federico | FERNANDEZ DO PORTO, Darío

INSTITUTO DE CÁLCULO, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UBA

Introducción y Objetivos: El avance de la biología celular y molecular junto con el exponencial crecimiento de la genómica de alto rendimiento y la bioinformática, han proporcionado una vasta caracterización de los componentes presentes en los organismos y sus interacciones, por lo que los proyectos post-genómicos centran su atención en la comprensión de redes metabólicas y de señalización, grandes complejos multiméricos, e incluso, organismos enteros. Las interacciones en sistemas biológicos suelen representarse en redes. La reconstrucción de la red metabólica seguida de su representación en forma de grafo permite medir y ranquear la importancia de los nodos (reacciones-proteínas) en el contexto metabólico de acuerdo a su potencial como blancos de proyectos de desarrollos de fármacos. En particular, nodos con alta centralidad conectan diferentes partes de la red, representando proteínas con características atractivas para el desarrollo de antimicrobianos ya que su inhibición podría producir el desequilibrio de varias vías metabólicas a la vez. Por otra parte, la determinación de reacciones choke-point, reacciones únicas en su capacidad de consumir o producir un metabolito, también es una estrategia atractiva para la selección de blancos dado que la inactivación de este tipo de reacciones puede implicar la acumulacion de un metabolito o la reducción del fitness metabólico. En este marco el objetivo de este trabajo fue reconstruir el metabolismo de A. baumannii con el objetivo de buscar blancos novedosos para el desarrollo de antibióticos capaces de atacar este patógeno oportunista asociado principalmente con infecciones intrahospitalarias

Materiales y Métodos: La reconstrucción de la red se realizó con el soporte de la herramienta Pathway Tools, utilizando como archivo de entrada el genoma anotado en formato gbk. A partir de dicho genoma se crea un base de datos de genomas/vías (PGDB) que asigna genes y proteínas, a las correspondientes reacciones y vías metabólicas predichas. Luego se realizó un exhaustivo curado manual de cada una de las reacciones y vías de la red. La red resultante se representó en forma de grafo utilizando Cytoscape y se determinaron las medidas topológicas que caracterizan dicha red.

Resultados: La componente principal de la red resultó compuesta por 1242 nodos y 21338 aristas. Solo 152 nodos presentaron alta centralidad normalizada (mayor a 0.1), característica de una red de mundo pequeño. A su vez se pudieron determinar 492 chokepoints. Las siguientes proteínas cumplieron con los criterios de ejecutar reacciones chokepoint y de alta centralidad a la vez: orotidine-5'-phosphate, DXP-synthase, coproporphyrinogenase, UDP-N-acetylglucosamine diphosphorylase y amidophosphoribosyltransferase; entre otras.

Conclusiones: Se espera que la integración de los datos obtenidos con otros set de datos de escala genómica permita la selección y priorización racional de potenciales blancos para futuros desarrollo de drogas.

MI 011

0231 - NUEVO AISLAMIENTO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINO RESISTENTE DE LA COMUNIDAD (SAMR-AC) CON SENSIBILIDAD INTERMEDIA A VANCOMICINA (VISA) Y NO SENSIBILIDAD A DAPTOMICINA (DAP-NS)

ERRECALDE, Laura [1] | MONTIBELLO, Silvia[1] | CERIANA, Paola[2] | GAGETTI, Paula[2] | CHAVEZ, Marina Magalí[2] | CUATZ, Daniel[3] | FALAK, Adriana[3] | ROLÓN, María José[3] | CORSO, Alejandra[2] | GUELFAND, Liliana[1]

SECCIÓN MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS DR J. A. FERNÁNDEZ [1]; SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN" [2]; SERVICIO DE INFECTOLOGÍA. HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS DR J. A. FERNÁNDEZ [3]

Introducción: *Staphylococcus aureus* es un agente frecuente de infección hospitalaria y de la comunidad. Vancomicina (VAN) se utiliza como tratamiento empírico en infecciones por SAMR. En Argentina previamente se describieron cepas VISA (CIM 4-8 ug/ml) y hetero-VISA (h-VISA) (sensibles por CIM (CIM <= 2ug/ml) pero con subpoblaciones VISA) y DAP-NS (CIM >= 2ug/ml). Estos mecanismos se asociaron a falla de tratamiento. Objetivo: describir el caso clínico y las características moleculares de una cepa SAMR-AC que evoluciona a h-VISA, VISA y DAP-NS intratratamiento con VAN y DAP. Materiales y métodos: la sensibilidad de 2 SAMR obtenidos de hemocultivos (HC) del mismo paciente, se evaluó, según CLSI 2019, por: sistemas automatizados Phoenix, Vitek 2 y Microscan Walkaway 96 plus, CIM a VAN por macrodilución en caldo y E-test de VAN, TEI y DAP. El h-VISA se confirmó por predifusión (tabletas Rosco). La detección de panton-valentine leukocidin factor (PVL) se realizó por PCR y la caracterización del SCCmec por PCR multiplex. Se estableció relación clonal por SmaI-PFGE.

Caso Clínico: Paciente masculino de 61 años se interna el 9/4/2018 por dolor, eritema, calor e impotencia funcional en MI. Presenta antecedente de internación previa en marzo de 2018 por celulitis de miembro inferior (MI) con rescate en HC y piel y partes blandas (PPB) de SAMR que cumplió tratamiento con vancomicina 1 g/12 h por 14 días. Se realizan HC y punción de PPB de donde se aisla SAMR CIM VAN 1 µg/ml y DAP <= 1 µg/ml. Se inicia tratamiento con VAN 1 g/12 h. Se realiza drenaje de colección de MI. Durante la internación persiste con HC positivos para SAMR. Se realiza ecocardiograma transtorácico y transesofágico sin evidencia de endocarditis y ecografía abdominal, tomografía de tórax, abdomen y pelvis sin focos sépticos. Ante la persistencia de la bacteriemia, el 22/4 se rota a DAP (6 mg/kg/día). El 26/4 se aumenta la dosis de DAP (12 mg/Kg/día). El 29/4 se aisla de HC SAMR CIM VAN 2 µg/ml (h-VISA) y DAP 0,5 µg/ml (S) (cepa 2). El 7/5 se aisla SAMR de HC CIM VAN 4 µg/ml (VISA) y DAP 4 µg/ml (NS) (cepa 3). Se suspende el tratamiento con DAP y se rota a TMS iv (trimetoprima 160 mg sulfametoxazol 800 mg/6hs) + LEV vo (750 mg/d). Luego de 14 días de tratamiento con TMS + LEV y 14 días de TMS vo (misma dosis) y HC de control negativos, recibe el alta el 1/6/2018. La cepa 2 se confirmó como h-VISA y DAP S, mientras que la cepa 3 como VISA y DAP-NS. Ambos aislamientos portaban SCCmec tipo IV y fueron PVL negativo. Por medio de SmaI-PFGE se determinó que presentaban idéntico perfil de restricción, asociado al "Southwest Pacific Clone" de secuenciotipo 30 (ST30).

Conclusiones: Se describe un nuevo caso en Argentina de SAMR-AC VISA y DAP-NS. Es importante monitorear por CIM la sensibilidad a VAN y DAP teniendo especial atención en los incrementos de los valores de CIM en aquellos pacientes con bacteriemia persistente. Destacamos el valor de la prueba de predifusión a VAN, TEI y DAP como predictora de cepas h-VISA, VISA y DAP-NS.

MI 012

0239 - RESISTENCIA A LA AZITROMICINA EN CEPAS DE *SALMONELLA* SPP. DE ORIGEN PORCINO Y SU RELACIÓN GENÉTICA CON CASOS DE SALMONELOSIS EN HUMANOS

IBAR, Mariela [1] | PANTOZZI, Florencia[2] | CAFFER, María Inés[3] | MORONI, Mirian[3] | PERFUMO, Carlos[4] | NIEVAS, Victor Fabio[2] | SGUAZZA, Hernan[5]

SERVICIO DE DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y ANTIMICROBIANOS, FCV-UNLP /CONICET [1]; SERVICIO DE DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y ANTIMICROBIANOS (SEDIBYA), FCV - UNLP [2]; SERVICIO DE ENTEROBACTERIAS, INSTITUTO "DR. CARLOS G. MALBRAN" INEI - ANLIS [3]; CÁTEDRA DE PATOLOGÍA, FCV-UNLP [4]; CATEDRA DE VIROLOGÍA, FCV-UNLP [5]

Introducción y Objetivos: La salmonelosis (S) es generalmente contraída a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal. En personas inmunocompetentes causan episodios de diarrea, pero en inmunocomprometidos se asocian con cuadros septicémicos. Una alternativa antimicrobiana (ATM) en el tratamiento de S especialmente en niños es la azitromicina (AZT), macrólido de amplio espectro, que inhibe la síntesis proteica y que a partir de 2015 fue incluido de rutina en cepas de *Salmonella* en el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR). Las primeras *S*. Typhimurium resistentes (R) de América Latina se aislaron en 2018. La R a AZT en *Salmonella* spp. es un mecanismo de R emergente, mediado por el gen *mph*A, y ha sido hallado en Argentina en plásmidos de cepas de *S*. Typhimurium aisladas de casos clínicos de S. El objetivo del estudio fue determinar la sensibilidad a AZT en cepas de *Salmonella*spp. aisladas de cerdos y establecer su relación genética con cepas de casos de S en humanos.

Materiales y Métodos: Se analizaron 101 cepas de *Salmonella* spp. obtenidas en 2007, a partir de un estudio epidemiológico transversal en 10 granjas porcinas (8 cepas) y en 4 frigoríficos (93 cepas). La marcha

bacteriológica se realizó según las normas FDA/BAM/AOAC y la serotipificación según el esquema de Kauffmman-White-Le Minor. Los perfiles genéticos se determinaron según la técnica de PFGE, se analizaron con el programa BioNumerics y se compararon con datos de la Base de Datos Nacional (BDN) de casos de S en humanos registrados entre 2001-2016. La sensibilidad ATM se realizó por la técnica de difusión por discos según CLSI. Los resultados se interpretaron según el punto de corte clínico para *S*. Typhi y azitromicina (R: =12), extrapolado a las demás serovariedades de *Salmonella* spp. según recomendaciones del LNR.

Resultados: En total, el 66% (65/101) de las cepas de *Salmonella* spp. fueron R a AZT, 5 provenientes de granjas y 60 de frigoríficos. Las serovariedades fueron *S*. Agona, *S*. Typhimurium, *S*. Tennessee, *S*. Seftenberg, *S*. Bredeney, *S*. Adelaide, *S*. Rissen, *S*. Hartford, *S*. Schwarzengrund, *S*. Derby, *S*. Newport y su variante monofásica, *S*. Heidelberg y *S*. Infantis. No hubo R a AZT en *S*. Anatum, *S*. Orion y *S*. subespecie I (1,3,19:-:-). Veintiuna cepas de origen porcino presentaron el mismo perfil genético que cepas de origen humano de *S*. Typhimurium, *S*. Newport y de su variante monofásica, *S*. Derby, *S*. Agona y *S*. Infantis.

Conclusiones: *Salmonella* Typhimurium R a AZT de casos humanos portando el gen *mph*A en plásmidos evidencian la transmisión horizontal. El hallazgo de perfiles genéticos idénticos entre cepas porcinas y humanas alerta sobre la importancia de vigilar el uso de ATM en la producción animal.

MI 013

0240 - INFECCIONES URINARIAS NO COMPLICADAS DE LA COMUNIDAD. UNA MIRADA PROFUNDA A UN PARTICULAR NICHO BACTERIANO

ORTEGA, Margarita Mariela | VARG, Rossana Alejandra

HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO

Introducción y Objetivos: Las infecciones urinarias no complicadas de la comunidad (IUNC) conforman una patología que se presenta con frecuencia en pacientes provenientes de consultorio y de guardia Actualizar nuestro mapa de resistencia a antimicrobianos obtenidos de IUNC en pacientes ambulatorios, abarcando una extensión de 152 km con una población aproximada de 52.000 habitantes. Orientar al equipo de salud en el tratamiento empírico de estas infecciones de acuerdo a los resultados obtenidos. Contribuir al uso racional de antimicrobianos.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo y descriptivo en el periodo comprendido entre el 1 de abril de 2018 al 31 de marzo del 2019. Fueron incluidos pacientes ambulatorios de ambos sexos, dentro de un rango etario comprendido entre los 14 y 65 años de edad, con muestras de urocultivos positivos, remitidas al Sector de Bacteriología del Programa Bioquímico de nuestro hospital "Nuestra Señora del Rosario" de la ciudad de Cafayate, provincia de Salta. De un N° total de 309 urocultivos positivos, se aislaron 291 Enterobacterias. Dicho número de muestras se redujo a 87, aplicando los criterios de punto de corte para sedimento urinario, recuento de colonias y combinación de perfil de sensibilidad antimicrobiana. Las pruebas de sensibilidad se realizaron por la técnica de Kirby Bauer. La lectura e interpretación se llevaron a cabo de acuerdo a lo establecido por el CLSI y la red WHONET.

Resultados: Dentro de la población estudiada, el 94% (82) de los pacientes pertenece al sexo femenino. El rango etario con mayor IUNC se encuentra comprendido entre los 14 y 33 años de edad, siendo el principal patógeno aislado E. coli con un 90% (78) y en menor porcentaje *Klebsiella pneumoniae* 8% [7], *Proteus spp.* y *Enterobacter aerogenes* con 1% [1]. Los porcentajes de sensibilidad obtenidos para los antimicrobianos ensayados se detallan a continuación: GEN 90%(78), CTX 84%(73). NIT83%(72), AMS 79%(69), CIP 54% (47), TMS 52%(45). De los 87 aislamientos solo 11 expresaron BLEE, 10 correspondieron a cepas de E.coli.

Conclusiones: Si nos centramos en los resultados de este estudio, existe un marcado predominio de muestras positivas en el sexo femenino. En cuanto a los aislamientos obtenidos, el principal uropatógeno es E.coli, hecho que no sorprende, solo reafirma lo descripto sobre el tema en la literatura sobre IUNC. Con respecto a los perfiles de sensibilidad, los mismos se encuentran por encima del punto de corte descripto a nivel internacional (20 %), para su uso como tratamiento empírico. Los datos arrojados para BLEE fueron menores a lo esperado, teniendo como referencia los citados en la red WHONET del año 2017 para IUNC, en cepas de E. coli, comprendido entre 25 y < 50 %, para nuestra provincia. Tuvimos limitaciones para adherirnos a los antimicrobianos propuestos por esta red, puntualmente Ampicilina y Cefazolina, perdiendo la posibilidad de incluirlos como opciones terapéuticas. Cabe destacar que Los Valles Calchaquíes conforman un nicho particular, alejado de los perfiles de resistencia de los centros urbanos de nuestro país, brindando un amplio y particular abanico de opciones para el tratamiento empírico de estas infecciones. El éxito terapéutico en el tratamiento de las IUNC será mayor y la diseminación del mecanismo de resistencia será menor, estudiando y comunicando el perfil de resistencia local, a los profesionales de la salud pública y privada.

MI 014

0242 - ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN CARNE VACUNA FRESCA DE PELICULAS BIODEGRADABLES A BASE DE QUITOSANO Y ALMIDON CON AGREGADO DE ACEITE

ESENCIAL DE POMELO CONTRA *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 Y *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

BORDAGARAY, Valeria Carina [1] | BOF, María Julieta[1] | LAURENT, Franco Emanuel[1] | SUAREZ, Gustavo Daniel[1] | PÉREZ, Adrián Alejandro[2] | LOCASO, Delia Elisa[1]

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN [1]; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA (UNL) [2]

Introducción y Objetivos: En la actualidad se encuentra en auge el desarrollo de nuevas tecnologías de envases biodegradables para controlar el crecimiento microbiano en la superficie de alimentos, y mantener la calidad y seguridad de los mismos. Una alternativa es el uso de envases activos con incorporación de aceites esenciales(AE) como antimicrobianos. El objetivo de este trabajo es determinar la actividad antimicrobiana en carne vacuna fresca de películas a base de quitosano(Q) y almidón de maíz(A) con agregado de AE de pomelo *Citrus Paradisi* "Marsh Seedless"(P). La finalidad es disponer de nuevos materiales activos contra *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* Typhimurium. El aceite P se elige luego de efectuar un screening de varios AE, en trabajos previos.

Materiales y Métodos: Se dispersa Q en una solución de ácido acético en agua. Se disuelve A en agua y se deja reposar. Se gelatiniza a 85ºC y enfría a 50ºC. A esta solución se agrega plastificante, la dispersión Q (proporción Q:A 50:50), emulsionante y P (en concentraciones de 1,0; 2,0 y 3,0%p/p), con agitación. Se pasa por homogenizador UltraTurrax IKA T18 y, para extraer las burbujas de aire, se lleva a bomba de vacío. Se preparan películas con Q y A (QA) y A (A100%) sin agregado de P. Las películas se obtienen por método casting. Se vierten 15 g de suspensión en placas y se secan a 30ºC. Las películas se separan del soporte y acondicionan 4 días a 100%HR. A partir de rodajas congeladas de carne vacuna del corte Peceto, se seccionan con sacabocados discos de 30 mm de diámetro. Se colocan en flujo laminar y se exponen de cada lado a luz UV. La superficie de los discos se inocula con 30 µl del inóculo, ajustado para obtener una concentración superficial de 1.10^6 UFC/cm^2. Se deja absorber y aplican las películas. Se almacenan en condiciones de refrigeración a 5°C por 5 días y se determinan los recuentos en Log_10 UFC al Día 0 y Día 5 (n=4). Las cepas utilizadas para los ensayos fueron provistas por ANLIS-INEI "Carlos G. Malbrán". Los datos se analizan mediante ANOVA y se aplica la prueba de Tukey para detectar diferencias significativas entre las medias de los tratamientos ($p<0,05$).

Resultados: En el caso de *E. coli* O157:H7, los resultados de las películas QA comparados con A100%, muestran que hay diferencias estadísticamente significativas. El efecto obtenido es la reducción entre 1,2 y 1,4 log_10 UFC. La mayoría de los resultados observados en las películas con adición de P indicaron que los efectos son similares a las películas QA. Para la cepa de *S.* Typhimurium los resultados obtenidos evidencian que no hubo un efecto significativo de las películas QA y QA con adición de P con respecto a A100%.

Conclusiones: Frente a estos resultados se puede concluir que las películas QA formuladas ejercerían control del crecimiento de *E. coli* O157:H7, en carne fresca vacuna. Se considera factible continuar con estudios a fin de potenciar el efecto inhibitorio de estas películas optimizando la incorporación de aceites mediante la tecnología de encapsulación.

MI 015

0292 - CARACTERIZACIÓN DE PLÁSMIDOS PORTADORES DE *MCR-1* DE ORIGEN PORCINO EN ARGENTINA

FACCONE, Diego [1] | ALBORNOZ, Ezequiel[1] | MOREDO, Fabiana Alicia[2] | GIACOBONI, Gabriela I.[2] | CELAYA, Federico[1] | ALARCÓN, Laura[3] | DE BELDER, Denise[1] | NIEVAS, Victorio F.[2] | CORSO, Alejandra[1]

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN" [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLP [2]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLP [3]

Introducción y Objetivos: La resistencia a polipétidos (colistina/polimixina B) mediada por el gen mcr-1 fue descripta en nuestro país a principios de 2016 en aislamientos de *E. coli* (ECO) recuperados de pacientes internados y ambulatorios. Posteriormente se describió en animales para consumos, mascotas y animales de vida silvestre. Hasta 2019, en sistemas de producción de animales para consumo humano, se utilizaba con fines terapéuticos y profilácticos. Todos los plásmidos portadores del gen mcr-1 estudiados en nuestro país, tanto de origen humano, aviar como canino, fueron del grupo de incompatibilidad IncI2 (GI-IncI2) con un tamaño aproximado de 60-65Kb. El objetivo fue caracterizar los plásmidos portadores de mcr-1 en ECO de muestras de origen porcino de Argentina.

Materiales y Métodos: Se recuperaron 12 ECO resistentes a colistina de 31 muestras fecales de lechones con diarrea y cerdos sanos de dos granjas de San Luis y Entre Ríos, durante el año 2017. La sensibilidad a colistina se evaluó por el método de agar spot (3ug/mL) y el resto de los antimicrobianos por difusión con discos (CLSI, 2018). Los genes de resistencia, las variantes de CTX-M y el GI-IncI2 se determinaron por PCR y la

secuenciación por Sanger. Se empleó una PCR múltiple para la detección de los clones internacionales de ECO: ST131, ST69, ST73 y ST95. La relación genética se evaluó por XbaI-PFGE y el número y tamaño de los plásmidos se evaluó por nucleasa S1-PFGE.

Resultados: Los 12 ECO resistentes a colistina fueron positivos para el gen mcr-1 y presentaron perfil de resistencia a múltiples drogas (MDR). La resistencia fue (%): ampicilina y tetraciclina (100); cefazolina y cefalosporinas de 3ra generación (C3G) (50); cloranfenicol (83); ciprofloxacina (58); minociclina (58); trimetoprima-sulfametoxazol (42); amoxicilina/clavulanico (25); gentamicina [8]. Todos fueron sensibles a amicacina, tigeciclina, nitrofurantoina, piperacilina/tazobactam y carbapenemes. Los 6 ECO resistentes a C3G portaban CTX-M-8/25 [4], CTX-M -1/15 [1] o CMY [1]. Se definieron 11 perfiles por XbaI-PFGE y ningún ECO fue positivo para los clones internacionales buscados. 10/12 aislamientos fueron positivos para el GI-IncI2 y 6 de estos presentaron plásmidos en el rango 60-65Kb. Los dos ECO negativo para el GI-IncI2 tenían 1 (75Kb) y 3 plásmidos (42; 85; 100Kb), respectivamente.

Conclusiones: Todos los ECO positivos para mcr-1 presentaron perfil de MDR y la variante CTX-M-8/25 fue la BLEE más frecuente. La mayoría de los ECO portaba plásmidos del GI-IncI2, sin embargo no todos presentaron los plásmidos característicos de 60-65Kb. Se detectaron aislamientos negativos para el GI-IncI2 con diversidad en el número y tamaño de los plásmidos. Los plásmidos portadores de mcr-1 en ECO de cerdos presentan características epidemiológicas distintas a las previamente descriptas en nuestro país y requieren ser estudiados en profundidad.

MI 016

0315 - CEFTAZIDIMA-AVIBACTAM COMO TRATAMIENTO CORTO DE BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASA KPC EN PACIENTES INMUNOSUPRIMIDOS

HERRERA, Fabián | TEMPORITI, Elena | JORGE, Laura | **NICOLA, Federico** | ZERBONI, Sofía | REARTE, Andrés | BUES, Florencia | BONVEHÍ, Pablo

CEMIC

Introducción: Las bacteriemias por Enterobacterias productoras de carbapenemasa KPC (EPCKPC) son frecuentes en pacientes inmunosuprimidos y la mortalidad suele ser superior al 50 %. El tratamiento más utilizado es la combinación de 3 o más antibióticos, que usualmente incluyen colistin y meropenem durante mayor o igual a 10 días. Actualmente, la mayoría de las cepas presenta una CIM a meropenem > 16 µ/ml y un alto porcentaje son también resistentes a colistin. Ceftazidima-avibactam (CAZAVI) tiene una importante actividad microbiológica contra estos microorganismos, pudiéndose utilizar como monoterapia, aún en infecciones severas. No obstante, no hay datos de tratamientos acortados en bacteriemia con este antibiótico. Presentamos una serie de 5 casos de bacteriemia por EPCKPC en pacientes inmunosuprimidos exitosamente tratadas con ceftazidima-avibactam por un período menor o igual a 8 días.

Caso Clínico: Caso1: paciente con trasplante de células progenitoras hematopoyéticas tratado con prednisona y tacrolimus con bacteriemia de foco catéter venoso central y enteritis por K. pneumoniae sensible a amikacina, fosfomicina, tigeciclina y CAZAVI (CIM: 1 µ/ml). Inició tratamiento combinado con amikacina y CAZAVI, y a las 48 hs continuó con CAZAVI monoterapia completando 7 días con evolución favorable y hemocultivos (HC) negativos. Caso 2: paciente con mieloma múltiple tratada con dexametasona, con bacteriemia por K. pneumoniae sensible a amikacina, gentamicina, tigeciclina, colistin, fosfomicina, ciprofloxacina y CAZAVI (CIM: 0,25 µ/ml) de foco pielonefritis. Recibió tratamiento empírico y documentado con CAZAVI monoterapia por 8 días con evolución favorable y HC y urocultivo negativos. Caso 3: paciente con trasplante renal en tratamiento con prednisona, tacrolimus, micofenolato y gamaglobulina antilinfocitaria, con bacteriemia de foco pielonefritis por S. marcescens, sensible a amikacina, gentamicina, tigeciclina y CAZAVI (CIM: 0,75 µ/ml). Inició tratamiento empírico con amikacina y a las 48 hs rotó a CAZAVI monoterapia completando 7 días con evolución favorable y HC y urocultivo negativos. Caso 4: paciente con mieloma múltiple en tratamiento con dexametasona y bortezomib, con bacteriemia primaria por E. cloacae sensible a amikacina, colistin, tigeciclina, fosfomicina y CAZAVI (CIM: 2 µ/ml). Inició tratamiento empírico con CAZAVI monoterapia, con evolución favorable y HC negativos, completando 7 días de tratamiento. Caso 5: paciente con leucemia mieloblástica aguda en tratamiento con fludarabina, idarrubicina y Ara C con bacteriemia primaria por K. varicola sensible a amikacina, gentamicina, colistín, tigeciclina, fosfomicina y CAZAVI (CIM: 0,38 µ/ml). Inició tratamiento empírico con CAZAVI y amikacina y a las 48 hs continuó con CAZAVI monoterapia completando 7 días con evolución favorable y HC negativos.

Conclusiones: Los pacientes inmunosuprimidos con bacteriemias por EPCKPC y con resolución clínica, podrían tratarse con ceftazidima-avibactam por períodos cortos y en monoterapia.

MI 017

0323 - COMPLEJO *ACINETOBACTER BAUMANNII*: PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, RED WHONET - ARGENTINA

ALBORNOZ, Ezequiel | MENOCAL, Alejandra | LUCERO, Celeste | PASTERAN, Fernando | TUDURI, Ezequiel | DE MENDIETA, Juan | RED WHONET, Argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: El complejo *A. baumannii* (Aba) se considera uno de los principales patógenos causante de infecciones asociadas al cuidado de la salud, con un alto nivel de resistencia a la mayoría de los antimicrobianos (ATM) y escasas opciones de tratamiento. En 2017, la Organización Mundial de la Salud incluye a *A. baumannii* resistente a carbapenemes en la lista de patógenos de prioridad crítica para la investigación y desarrollo de nuevos ATM. En Argentina la resistencia a carbapenemes en Aba aumentó del 10% en el año 2000 al 85% en 2009, fundamentalmente por la adquisición o hiperproducción de carbapenemasas del tipo oxacilinasas. En 2014 emergen en nuestro medio los primeros aislamientos de Aba portadores de NDM (metalo-ß-lactamasa) y en la actualidad representan un 2% de la resistencia a carbapenemes en este complejo. El objetivo de este trabajo es reportar el perfil de sensibilidad a los ATM en aislamientos de Aba provenientes de infecciones intrahospitalarias de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET-Argentina en el período 2010-2017.

Materiales y Métodos: Se analizaron 10545 aislamientos, recuperados de episodios de infección (1 por paciente), de 89 instituciones de salud distribuidas en 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM se evaluó por el método de difusión con discos y/o automatizados e interpretó según CLSI 2018. Colistín y tigeciclina se interpretaron según EUCAST o LNR. Los datos se analizaron con el software WHONET5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (NS) (%I+%R). Los cambios en %NS se consideraron significativos cuando $p<0.05$ (Test de Fisher).

Resultados: La distribución anual de los aislamientos fue (nº/año): 1079/2010, 1302/2011, 885/2012, 974/2013, 1640/2014, 1643/2015, 1462/2016 y 1560/2017. Las muestras respiratorias (lavado broncoalveolar, aspirado traqueal y esputo) fueron el principal sitio de aislamiento (40%) seguido de sangre (20%) y orina (13%). El %NS se mantuvo estable (promedio 2010-2017) para: ampicilina/sulbactam (80%), ceftacidima (91%), imipenem (86%) y colistín (1%). Por el contrario, se observó una disminución significativa en el %NS cuando se compararon los períodos 2010-2011 vs. 2016-2017 para: piperacilina/tazobactam (91% vs. 88%), meropenem (89% vs. 86%), ciprofloxacina (93% vs. 87%), trimetoprima/sulfametoxazol (90% vs. 85%), cefepime (91% vs. 86%), gentamicina (82% vs. 74%), amicacina (74% vs. 37%). minociclina (15% vs. 13%) y tigeciclina (11% vs. 8%)

Conclusiones: La NS a los ATM en Aba se mantuvo estable para algunas drogas y para otras se observó una disminución significativa, sin embargo esta disminución no tuvo impacto en los tratamientos empíricos ya que la resistencia sigue siendo elevada. Minociclina, tigeciclina y colistín continúan siendo las drogas con mayor actividad in vitro para Aba. La vigilancia continua de la resistencia a los ATM es la principal herramienta para la optimización de los tratamientos empíricos, lo cual permite instaurar un tratamiento antes de tener disponible el perfil de sensibilidad del microorganismo.

MI 018

0368 - GENES TRANSFERIBLES DE RESISTENCIA A QUINOLONAS, *QNRB4* Y *QNRB52*: PRIMER REPORTE EN ARGENTINA Y ANÁLISIS DE SUS MEGAPLÁSMIDOS PORTADORES

MARTINO, Florencia [1] | DE BELDER, Denise[1] | PIN VISO, Natalia[2] | FERNÁNDEZ, Franco[3] | FARBER, Marisa[2] | CORSO, Alejandra[1] | PETRONI, Alejandro[1]

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INEI, ANLIS "MALBRÁN" [1]; INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, INTA-CONICET [2]; INSTITUTO DE PATOLOGÍA VEGETAL, CIAP-INTA [3]

Introducción y Objetivos: *Klebsiella quasipneumoniae* subsp. *quasipneumoniae* (Kqsq) M17277 se aisló junto con otras 4 enterobacterias de un paciente pediátrico (CABA, 2014). Entre otras drogas, M17277 era resistente a quinolonas, pero sin mutaciones en *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* asociadas a resistencia a estas drogas. La búsqueda de mecanismos plasmídicos de resistencia a quinolonas (MPRQs) reveló 2 genes aún no descriptos en Argentina, *qnrB4* y *qnr52*, y además *aac(6')-Ib-cr1*. Por Nucleasa S1, se detectaron 4 plásmidos de 480, 226, 135, y 119 kpb. El objetivo de este trabajo fue analizar los plásmidos de M17277 portadores de *qnrB4* y *qnrB52*.

Materiales y Métodos: El ADN total de Kqsq M17277 se secuenció con lecturas cortas (MiSeq, Illumina) y largas (MinION, Oxford Nanopore). El ensamble conjunto de lecturas cortas y largas (híbrido) se realizó con *Unicycler* y las anotaciones con *Prokka*. Genes de resistencia, grupos de incompatibilidad (Inc) y secuencias de inserción se identificaron con *ResFinder*, *PlasmidFinder* e *ISfinder*. La comparación de secuencias se realizó

con BLAST [base de datos "nr/nt" de NCBI (NCBI-DB)], *Blast Ring Image Generator* (BRIG) y *Artemis Comparative Tool* (ACT).

Resultados: El ensamble híbrido permitió obtener secuencias cerradas (circulares) del cromosoma y los plásmidos de Kqsq M17277. Los genes *qnrB4* y *qnrB52* se localizaron en sendos plásmidos no descriptos previamente, y denominados p17277A (477.340 pb; IncHI2) y p17277B (123.307 pb; IncFII), respectivamente. En p17277A y p17277B, *qnrB4* y *qnrB52* se localizaron en la región variable 2 de integrones de clase 1 complejos, cuyas regiones de casetes fueron *aac(6')-IIc/ereA2::[IS1247/aac*^{3}*-IIb-like/arr/orf1]* y *aac(6')-Ib-cr1/aadA16/arr3/dfrA27*, respectivamente. El integrón de *qnrB4* estaba flanqueado por dos IS*26*, y el de *qnrB52*, por IS*26*, que truncó el extremo 3' de *intI1*, e IS*4321*, que truncó el orf5 del 3'CS2, conformando posibles transposones compuestos, denominados Tn*qnrB4* (28.554 pb) y Tn*qnrB52* (13.456 pb), respectivamente. La comparación de Tn*qnrB4* con NCBI-DB mostró solo 4 casos con 100% de cobertura y 99,86-99,93% de identidad, correspondientes a plásmidos de enterobacterias de Francia y China. La comparación de p17277A con estos 4 plásmidos reveló una cobertura de solo 54% a 62%, pero el análisis por BRIG y ACT indicó que todos estaban relacionados con p17277A. La comparación de Tn*qnrB52* con NCBI-DB mostró solo 5 casos con 100% de cobertura para el integrón de *qnrB52* y 99,98-100% de identidad, correspondientes a plásmidos de enterobacterias de China. Estos 5 casos, también tenían una IS*26* en el extremo de *intI1*, pero a 418 o 638 pb río abajo de éste, y no tenían IS*4321*. La comparación de p17277B con estos 5 plásmidos mostró una cobertura de 23% a 92% y el análisis por BRIG y ACT también reveló relación entre todos ellos. La comparación de los entornos de Tn*qnrB4* y Tn*qnrB52* con sus respectivas contrapartes de NCBI-DB, sugirió que la localización de estos genes en distintos plásmidos involucró eventos de transposición y/o recombinación mediada por IS*26*.

Conclusiones: Este es el primer reporte de *qnrB4* y *qnrB52* y la primera descripción de megaplásmidos portadores de MPRQs en Argentina. La localización de *qnrB4* y *qnrB52* en posibles elementos móviles sugiere que su diseminación podría deberse tanto a transposición como a rearreglos genómicos complejos.

MI 019

0391 - *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*: PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, RED WHONET - ARGENTINA.

RAPOPORT, Melina | LUCERO, Celeste | MENOCAL, Alejandra | TUDURI, Ezequiel | PASTERAN, Fernando | RED WHONET, Argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: *Klebsiella pneumoniae* (KPN) se reconoce mundialmente como uno de los principales patógenos asociados a las infecciones intrahospitalarias (IH), siendo en nuestro país el tercer gérmen en frecuencia de aislamiento. Ocupa también el tercer puesto en las bacteriemias y el segundo en las infecciones urinarias de pacientes hospitalizados. El perfil de sensibilidad fue variando con los años principalmente a expensas de la diseminación de KPN productora de ß-lactamasa de espectro extendido (BLEE), carbapenemasas y la resistencia a otros antimicrobianos (ATM) asociada con estos mecanismos. Objetivo: Reportar el perfil de sensibilidad a los ATM en aislamientos de KPN provenientes de infecciones IH de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET-Argentina en el período 2010-2017.

Materiales y Métodos: Se analizaron 18058 aislamientos de KPN, recuperados de episodios de infeccion (1 por paciente), de 89 instituciones de salud distribuidas en 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM de todo el periodo se evaluó por el método de difusión con discos y/o automatizados e interpretó según CLSI 2018. FOS, COL y TIG se interpretaron según EUCAST y LNR. Los datos se analizaron con el software WHONET5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (NS) (%I+%R). Los cambios en %NS se consideraron significativos con $p<0.05$ (Fisher Test).

Resultados: En el periodo 2010-17 las KPN analizadas provenían de (%): orina (45.5), sangre (22.6), respiratorio (12.8), abdominal (5.8), piel y partes blandas [5] y otras (8.2). Comparando los %NS 2010+2011 vs 2016+2017 (x%,y%) se observó aumento a IMP (8.5,15.8), MER (8.4,16.2), FEP (44.5,53), COL (5.2,7.9) y FOS (5.4,13.1). No se observaron cambios en %NS para TIG 6%, cefalosporinas de tercera generación (C3G) 57% y PTZ 45.5%. Así mismo, se observó una disminución en AKN (24.4,11.6), GEN (51.5,41.7), CIP (54.3,50.6) y SXT (59,56). En el periodo 2016-17, las KPN BLEE+ presentaron las siguientes resistencias acompañantes (%NS): SXT 85, CIP 81.2, GEN 69, AKN 11.8, FOS 10.6, TIG 7, COL 3. En el subgrupo de KPN R carbapenemes, se obtuvieron los siguientes %NS: SXT 87.3, CIP 80.8, GEN 70.4, COL 32, AKN 26.9, FOS 24 y TIG 7.3.

Conclusiones: La NS a C3G en KPN IH se mantuvo estable por encima del 50% evidenciando la endemicidad de BLEE. KPN IH presenta altos niveles de NS para SXT, GEN, CIP, tanto en la muestra general como en BLEE+ y KPN R a carbapenemes. Es preocupante el aumento de NS para drogas críticas como IMP, MER, FOS, COL. Aún las drogas con mayor actividad como AKN, TIG, FOS y COL presentan %NS superiores a 5%, desafiando la

elección de tratamientos empíricos y definitivos. La vigilancia continua es fundamental para entender la epidemiologia y evaluar el perfil de resistencia de los gérmenes MDR.

MI 020

0365 - INHIBICIÓN DE *E. COLI* UROPATÓGENOS PRODUCTORES DE BIOFILMS MEDIANTE USO DE EXTRACTOS HERBALES

DIAZ, Natalia Veronica | LORCA, Cecilia Maria | **WERENITZKY CURIA, Maria Cecilia**

FACULTAD DE BIOQUIMICA, QUIMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN.

Introducción y Objetivos: El 95% de las infecciones del tracto urinario (ITU) están causadas por E. coli uropatógeno (ECUP). La calidad de vida de los pacientes se ve afectada por el uso de antibióticos y su relación con la resistencia antimicrobiana. El 60% de las infecciones son causadas por bacterias productoras de biofilms, más difíciles de prevenir y tratar. El uso de sustancias naturales, principalmente extractos herbales, se ofrece como terapia alternativa y/o complementaria. Objetivos: a) Ensayar la actividad antimicrobiana de 10 extractos herbales acuosos recomendadas para ITU frente a aislados de ECUP productores de biofilms , b) Determinar cuantitativamente la actividad inhibitoria (CIM) de dichos extractos c) Estudiar la Concentración mínima inhibitoria (CIM) de cuatro sub extractos herbales orgánicos obtenidos con: Hexano, diclorometano, acetato de etilo y etanol 96º.

Materiales y Métodos: A) De 100 cepas de ECUP se seleccionaron las 10 que producían biofilms en el medio liquido: Glucosa 0,5%, Peptona de Carne 10g, NaCl 5g, H2O destilada 1000 ml, pH 6, sin fijación y coloración con cristal violeta en microplacas. B) Se realizaron extracciones acuosas (decocción e infusión) de 10 plantas medicinales de venta comercial para tratar ITU: Celidonia (Chelidonium majus), Fresno (Fraximus excelsior L.), Mastuerzo (Prosopis strombulifera), Meona (Euphorbia serpens), Palo Azul (Cyclolepis genistoides), Palo Pichi (Fabiana imbricata), Rompe Piedra (Lepidium latifolium), Sombra Toro (Jodina rhombifolia), Uva ursi (Arctostaphylos uva ursi L.), Yerba de las piedras (Usnea hieronymi). C) Se efectuó la CIM con diferentes concentraciones de extractos acuosos frente a 10 cepas de ECUP biofilm (+). D) Se realizó la extracción orgánica de Uva Ursi con los 4 solventes orgánicos y se determinó la CIM con los sub-extractos obtenidos.

Resultados: ECUP biofilm (+) presentaron diferente sensibilidad a los extractos acuosos: decocciones de uva ursi, mastuerzo y palo pichi mostraron halos de inhibición de 22 a 24 mm (100 % de las cepas), de 10 a 12 mm (60%) y de 10 a 14 mm (60%) respectivamente. Los liofilizados de decocción de uva ursi, mastuerzo y Palo pichi y el subextracto de acetato de etilo inhibieron todas las cepas. El extracto acuoso de Uva ursi resultó el principal inhibidor del crecimiento.

Conclusiones: Las decocciones e infusiones de Uva ursi, mastuerzo y la decocción de palo pichi demostraron mayor actividad antimicrobiana. La decocción original y liofilizado de Uva ursi y subextracto de acetato de etilo inhibieron el 100% de las cepas biofilm (+). El uso de Uva ursi como tratamiento y/o prevención de ITU causadas por E. coli en las primeras etapas de la infección sería una buena terapia alternativa y evitaría la producción de biofilm. Debido al aumento de la resistencia antimicrobiana, es imprescindible el desarrollo de estrategias efectivas preventivas y terapéuticas para evitar la expresión de la virulencia sin el uso de antimicrobianos.

MI 021

0378 - ESTUDIO DE CLONALIDAD DE ENTEROBACTERIAS PORTADORAS DE CARBAPENEMASA TIPO KPC EN UN HOSPITAL DE ROSARIO

ESTERLIZZI, Richard Luis | MURA, Stella | GARCIA, Miriam | PASCANER, Sara | PITTET, Claudio | GOMEZ, Margarita | ROSSIGNOL, Gustavo | BARRIOS, Cristian | KOZICKY, Graciela | JUANIZ, Andrea | **BALLERINI, Viviana Alicia**

HOSPITAL DE EMERGENCIAS DOCTOR CLEMENTE ALVAREZ

Introducción y Objetivos: La producción de carbapenemasas en bacterias Gram negativas es un hecho que debemos considerar y controlar. Estas enzimas están codificadas por genes que se encuentran en elementos genéticos móviles que le dan la posibilidad de desplazarse entre los distintos géneros y especies, emergiendo clones eficaces que son los responsables de la pandemia actual. En el caso de *Klebsiella pneumoniae* (Kpn) portadora del gen *blakpc*, el clon ST258 es el predominante en nuestro país.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 38 aislados de enterobacterias (EB) recuperadas de distintos materiales clínicos pertenecientes a pacientes internados en 3 sectores de un hospital de Rosario (sector de emergencias, áreas críticas y salas de cuidados intermedios) durante el periodo 04/2018 a 04/2019. Los aislados correspondieron a 23 Kpn, 3 *Escherichia coli* (Ec), 1 *klebsiella oxytoca* (kpo), 7 *Serratia marcescens* (Sm) y 4 *Enterobacter cloacae* (Eclo). Los métodos utilizados para la detección de carbapenemasas fueron: inhibición

de carbapenemasas (CIM), Hodge con y sin el agregado de tritón, carba blue y ensayos de sinergia. Se realizó la detección de los genes *blaKpc* y *pIIV* por la técnica de PCR. Por otro lado el estudio de clonalidad se realizó por la técnica de OD-PCR con cebadores 19 y 5314.

Resultados: El 100% de las EB estudiadas presentaron características fenotípicas compatibles con portación de carbapenemasas por las metodologías utilizadas, confirmadas con la detección del gen *blaKPC*. Los 7 aislados de Sm estudiados se agruparon en 3 clones (S1, S2 y S3), todos originados en áreas críticas. S1 y S2 fueron contemporáneos, en tanto que S3 apareció un mes después de los anteriores. De las 23 Kpn, en 7 se detectó *pilV* y el resto (16/23) resultaron con perfiles OD-PCR pertenecientes a 6 clones distintos: 2/16 correspondieron al clon A, 1/16 a B, 4/16 a C, 2/16 a D, 4/16 a E y 3/16 a F. Por otro lado, los 4 Eclo y 3 Eco no presentaron relación clonal en los perfiles OD-PCR.

Conclusiones: ¨Se puede concluir que hubo diseminación clonal de EB portadoras de KPC y se puede sospechar diseminación horizontal del gen *blaKPC*entre el resto de las especies. Las Kpn KPC relacionadas a ST258 siguen siendo las de mayor diseminación; los clones A y B fueron ocasionales con cierta tendencia a la persistencia de C,D y F. En Sm resultó ocasional la circulación de los clones S2 y S3, pero con persistencia del S1. Se observó policlonalidad en cada especie estudiada sin hallarse relación respecto del sector de internación. Resulta imprescindible informar estas resistencias en los casos de traslado de pacientes hacia otros nosocomios ya que existe alta probabilidad de diseminación interhospitalaria.

MI 022

0387 - ANALISIS DE SENSIBILIDAD A FLUOROQUINOLONAS DE *ARCOBACTER* AISLADOS DE QUESOS DE CONSUMO HUMANO

GOYES, Israel[1] | **BAYAS-MOREJÓN, Favian** [2] | NÚÑEZ TORRES, Darwin[2] | RAMÓN, Riveliño[2]

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR [1]; UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR [2]

Introducción y Objetivos: Hoy en día las enfermedades transmitidas por alimentos representan un problema de salud global. La vigilancia de los alimentos comercializados es un tema bastante complejo, puesto a que debe hacer tomar conciencia del riesgo sanitario y de la importancia en la implementación de acciones correctivas en la manipulación de los alimentos. Entre uno de los principales patógenos emergentes transmitidos por alimentos destaca el género *Arcobacter*, microorganismos que se caracteriza ser de vida libre que se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente como también formando parte de la micro biota intestinal. Que en ciertos casos ha presentado resistencia a cientos antibióticos de uso cotidiano. De tal modo que, el presente trabajo de investigación pretende conocer la actividad antimicrobiana de las fluroquinolonas sobre aislados de *Arcobacter* spp. obtenidos en quesos de consumo.

Materiales y Métodos: Se analizaron 100 muestras de quesos de los mercados central y mayorista de la ciudad de Guaranda (Ecuador). Las muestras fueron sometidas a enriquecimiento selectivo en *Brucella* broth (BB) suplementado con cefoperazona, anfotericina B y teicoplanina (CAT), durante 48 horas en microaerofilia. Posteriormente, 200 µL de cada caldo se transfirió a través filtros de membrana de 0,45µm colocados sobre agar sangre. Los microorganismos con presuntas características a ser *Arcobacter*, se les extrajo su ADN, luego se realizó la identificación de género mediante PCR con iniciadores que amplifican un fragmento de 1026-pb. El análisis de sensibilidad a ciprofloxacino y levofloxacino se realizó mediante la técnica de Kirby Bauer. Los aislados fueron re-suspendidos en agua salina al 10% hasta conseguir una turbidez de 0,5 en la escala McFarland, y posteriormente se inocularon sobre placas de agar Muller Hilton. Se colocaron los discos de antibiograma, y tras 48h de incubación en microaerofilia, se midió el diámetro de inhibición en mm. Los resultados se interpretaron siguiendo los criterios de la CLSI para *Campylobacter* (M45-A2, 2010).

Resultados: Mediante cultivo, se obtuvieron 66 aislados presuntos positivas para *Arcobacter*, sin embargo, mediante pruebas moleculares, 26 aislados fueron identificados como *Arcobacter* spp. Tras análisis de sensibilidad antibiótica, el 100% de los aislados obtenidos fueron susceptibles a las quinolonas estudiadas.

Conclusiones: Este trabajo muestra la presencia de aislados de *Arcobacter*, lo que demuestra así la importancia de un adecuado control sanitario e implementación de buenas practicas de manufactura para evitar infecciones humanas de origen alimentario, en especial de alimentos que muchas de las veces son consumidos en estado crudo como es el caso del queso fresco.

MI 023

0389 - BUSCANDO EL TALÓN DE AQUILES DE LA RESISTENCIA BACTERIANA AL ANTIBIÓTICO COLISTINA

TOMATIS, Pablo Emiliano | DOTTA, Gina | VILA, Alejandro Jose

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO

Introducción y Objetivos: Las bacterias patógenas resistentes a multiples antibióticos son un grave problema sanitario. Para poder hacer frente a la multi-resistencia se usan antibióticos que habían sido descartados debido a sus efectos secundarios adversos. Por ejemplo la colistina, un antibiótico lipo-peptídico catiónico, que interacciona electrostáticamente con el lípido A del lipopolisacárido y desintegra la membrana celular bacteriana, produciendo la muerte celular. Hace años que existen bacterias con resistencia genómica a colistina. Estas modifican al lípido A con grupos químicos con carga positiva, reducen la afinidad y por ende el antibiótico pierde efectividad. Recientemente, se describió el primer caso de *Escherichia coli* con resistencia a colistina mediada por el gen *mcr* en un plásmido que es transmisible entre especies. Desde entonces, se reportaron cepas con resistencia a colistina en animales, humanos, alimentos y en muestras ambientales. La adquisición del gen mcr por Enterobacterias ya resistentes a carbapenemes, da lugar a bacterias resistentes a todos los antibióticos disponibles y nos deja sin tratamiento. Nos proponemos caracterizar la proteína MCR, responsable de la resistencia a colistina.

Resultados: La proteína MCR es una fosfoetanolamina transferasa compuesta de un dominio N-terminal formado por 5 hélices alfa transmembrana (TM) y un dominio periplasmático soluble (DS) que contiene un sitio metálico de iones Zn(II). Se han informado cinco estructuras, pero sólo del DS de MCR. A pesar de la equivalencia estructural, la estequiometría sobre el contenido de metales es controvertida. Hemos clonado y expresado DS-MCR en diferentes concentraciones de Zn (II) en el medio de cultivo. Luego de purificar el DS, evaluamos el contenido de metal en la proteína purificada utilizando un indicador colorimétrico de Zn. En todas las condiciones probadas, DS-MCR fue capaz de unir un único equivalente de ion Zn (II). El quelante de metal EDTA se usó para obtener derivados de apo-proteínas. Luego se utilizó Co (II) como sonda espectroscópica para caracterizar el sitio activo de metal. Se produjeron aductos CoCo y ZnCo. Las bandas de campo del ligando mostraron un patrón de coordinación con geometría tetraédrica distorsionada. A su vez, se confirmó la estequiometria 1:1 de DS-MCR: Zn. La estructura secundaria, terciaria y la estabilidad relativa de los aductos de apo y metales se probaron mediante espectroscopia de dicroísmo circular. Se demostró que la unión de Zn(II) a DS-MCR aumenta su estabilidad relativa y modifica su estructura terciaria. Para disminuir los inconvenientes experimentales de trabajar con proteínas transmembranas, diseñamos, construimos y evaluamos versiones truncadas de MCR basados en un modelo 3D propuesto en base a la estructura de la proteína homologa EptA de *Neisseria meningitidis*. Utilizando un sistema de expresión fenotípica, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CIM) frente al antibiótico colistina. Ninguna de las variantes truncadas ensayadas logró ser funcional, destacando el rol funcional de las regiones transmembranas analizadas.

Conclusiones: El conocimiento generado sienta las bases para posteriores estudios estructurales y funcionales de MCR. A futuro, se proyecta estudiar el mecanismo de reacción de esta métalo enzima de membrana y poder racionalizar un inhibidor por competencia de MCR capaz de restablecer la eficacia antimicrobiana de colistina.

MI 024

0421 - NANOPARTÍCULAS DE PLATA OBTENIDAS POR SÍNTESIS VERDE FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINO RESISTENTE

MUSSIN, Javier Esteban [1] | ROJAS, Florencia[1] | SOSA, Maria de Los Angeles[2] | SAN MARTIN, Eduardo[3] | GIUSIANO, Gustavo[1]

INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE, CONICET [1]; INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [2]; 2- INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA [3]

Introducción y Objetivos: La nanotecnología es un importante campo de investigación moderno que se ocupa de la síntesis y manipulación de la materia en escala nanométrica. Las nanopartículas de plata (AgNP) presentan propiedades físicas y químicas distintas en comparación con sus homólogos en escala macro, a medida que disminuye el tamaño de la mismas, aumenta su relación superficie-volumen y su actividad antimicrobiana. Las AgNP generalmente se preparan mediante procesos físicos y químicos que son costosos y afectan el medio ambiente. Por otro lado, se busca emplear estas AgNP en productos aplicables al cuerpo humano. Por estas razones, hay una creciente necesidad de desarrollar procesos de síntesis respetuosos con el ambiente y que no utilicen compuestos tóxicos como en la mayoría de los protocolos de síntesis química. En respuesta a estas necesidades, la fitonanotecnología emerge como un método de síntesis verde en el cual se emplean plantas para la síntesis de AgNP. *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze (*A. australe*) es una planta medicinal de la familia Asteraceae utilizada por los pueblos originarios del nordeste argentino para la desinfección de heridas y úlceras de la piel, entre otras afecciones dérmicas. *Staphylococcus aureus* es uno de los principales agentes causantes de infecciones de piel y partes blandas. Estas infecciones son cada vez más difíciles de tratar debido al aumento de cepas resistentes a los antimicrobianos. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar nuevos compuestos con propiedades antimicrobianas pero, al mismo tiempo, rentables y de baja toxicidad.

Materiales y Métodos: El extracto acuoso se obtuvo a partir de 5 gr de hojas de *A. australe* por ebullición con agua destilada estéril durante 5 min. El extracto obtenido se filtró y almacenó a 4°C. Las AgNP se obtuvieron según la técnica de Song y col., 2009, con modificaciones, y fueron caracterizadas mediante espectrofotómetro UV-visible. Para evaluar la actividad inhibidora *in vitro* de AgNP, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) por el método de microdilución en caldo de acuerdo con el documento M07 del CLSI.

Resultados: La caracterización espectrofotométrica de las AgNP mostró que estas eran monodispersas y estables, con un diámetro promedio de 16 nm. La prueba de inhibición *in vitro* demostró la actividad de las AgNP sintetizadas frente a la cepa de MRSA con una CIM de 4 mg/L.

Conclusiones: El potencial inhibitorio observado constituye una prueba preliminar que avala científicamente ahondar en la investigación de las AgNP sintetizadas a partir de componentes de origen natural como un nuevo compuesto en la lucha contra el aumento de la resistencia a los antimicrobianos.

MI 025

0467 - EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE DISCOS DEL CLSI 30/20 UG Y EUCAST 10/4 UG DE CEFTAZIDIMA-AVIBACTAM (CZA) VERSUS EL MÉTODO DE REFERENCIA (DILUCIÓN EN AGAR/MICRODILUCIÓN) FRENTE A ENTEROBACTERALES (ETB) Y *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* (PAE)

PASTERAN, Fernando | DANZE, Diego | DATTERO, Maria Elena | MENOCAL, Alejandra | SOKEN, Luciana | LUCERO, Celeste | RAPOPORT, Melina | ALBORNOZ, Ezequiel | GRUPO, Cza-argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INEI, ANLIS "MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: CZA es una nueva combinación efectiva contra ETB y PAE, incluidos los productores de b-lactamasas de clases A, C y algunas D. El contenido del disco de CZA utilizado para las pruebas de sensibilidad (PSA) difiere entre CLSI (30/20ug) y EUCAST (10/4ug). Objetivo: evaluar el desempeño de los discos (CLSI y EUCAST) para evaluar la sensibilidad a CZA

Materiales y Métodos: Se incluyeron 205 aislamientos clínicos resistentes a carbapenemes y/o productores de carbapenemasas (100 PAE, 105 ETB), además de cepas ATCC (700603, 27853 y 25922). La caracterización de b-lactamasas se realizó mediante PCR/secuenciación. Las pruebas de difusión por discos, dilución en agar/microdilución se realizaron al menos por duplicado, según CLSI/EUCAST, mientras que las cepas ATCC se analizaron 6-10 veces. Se prepararon "in-house" discos con las cargas recomendadas por CLSI/EUCAST a partir de drogas de potencia. Adicionalmente, se evaluaron discos comerciales de Liofilchem 30/20ug y Britania 10/4ug. Los resultados se interpretaron con los puntos de corte de la norma respectiva. Se calcularon los errores muy mayores (EMM) y mayores (EM), según criterios FDA. Éstos se recalcularon excluyendo los halos dentro de la zona de incertidumbre técnica (ATU) propuesta por cada estándar (CLSI ETB 18-20 mm, EUCAST PAE 16-17 mm) o el LNR (PAE 15-16mm) (cEMM/cEM)

Resultados: Se obtuvieron 832 determinaciones (d). Los halos estuvieron dentro de +/- 2mm. Todas las cepas ATCC dieron resultados dentro del rango, independientemente del disco evaluado. Desempeño de los discos: ETB In-house 10/4ug (n=105, d=240): 0% EMM, 2.3% EM. Britania 10/4ug (n=100, d=282): 0% EMM, 2.8% EM. In-house 30/20ug (n=105, d=240): 0% EMM, 3.2% EM (0% cEM). Liofilchem 30/20ug (n=100, d=236): 0% EMM, 30% EM (7.5% cEM). PAE In-house 10/4ug (n=100, d=218): 0% EMM, 25% EM (20% cEM EUCAST; 8,4% cEM LNR). Britania 10/4ug (n=90, d=190): 0% EMM, 20.3% EM (13% cEM EUCAST; 3.7% cEM LNR). In-house 30/20ug (n=100, d=218): 41% EMM, 0% EM. Liofilchem 30/20ug (n=80, d=196): 21% EMM, 11% EM.

Conclusiones: Ambas cargas de discos, cuando se produjeron "in-house", mostraron resultados aceptables frente a ETB. Sin embargo, con los discos CLSI (pero no con EUCAST) se observó un gran número de determinaciones sensibles próximas al punto de corte, lo que podría afectar el rendimiento del disco si se produce un ligero deterioro del avibactam, como parece ocurrir con los comerciales. Las cepas ATCC no alertaron sobre el bajo rendimiento de los discos comerciales. Ambos, los discos CLSI/EUCAST, no clasificaron correctamente los aislamientos de PAE, con niveles inaceptables de EMM y EM, respectivamente. Nuestros datos sugieren la necesidad de incluir una ATU para PAE para mejorar el desempeño, aunque a pesar de esto, no alcanzaron el estándar recomendado. Las PSA de CZA para PAE deben revisarse con urgencia para evitar clasificaciones erróneas de un medicamento de último recurso. Urge redefinir cepas control de calidad que permitan alertar de problemas de desempeño de los discos de CZA.

MI 027

0892 - COEXISTENCIA DE MCR-1 Y BLANDM-1 EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* EN PERÚ

GONZALES ESCALANTE, Edgar [1] | YAURI, Katherine[2] | DI CONZA, Jose[1] | GUTKIND, Gabriel[1]

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [1]; CENTRO DE INVESTIGACIONES TECNOLÓGICAS, BIOMÉDICAS Y MEDIOAMBIENTALES (CITBM) [2]

Introducción y Objetivos: Las infecciones producidas por enterobacterias resistentes a carbapenémicos (CRE) en pacientes críticos son una de las preocupaciones más importantes en salud pública, ya que se asocian

con elevada morbimortalidad. Con diferencias regionales, las carbapenemasas tipo NDM están ampliamente diseminadas en todo el mundo. Uno de los antibióticos de último recurso contra la CRE es la colistina. En 2015, aparecieron los primeros informes sobre resistencia a colistina mediada por plásmidos, codificados por el gen mcr-1 (Mobile Colistin Resistance). Es por ello que la coexistencia de mcr-1 con una carbapenemasa es especialmente preocupante, ya que las opciones terapéuticas son muy limitadas. En este estudio, se describen aislamientos clínicos de enterobacterias que producen simultáneamente blaNDM-1 y mcr-1.

Materiales y Métodos: Se analizaron 59 aislamientos clínicos de enterobacterias productoras de carbapenemasas recuperados entre 2017 y 2018 en 6 establecimientos de salud de Lima, Perú. Para su caracterización se utilizaron métodos fenotípicos y métodos moleculares (PCR). Los valores de CIM para colistina fueron determinados mediante microdilución en caldo, y se interpretó según las recomendaciones de EUCAST. Dos aislamientos, H6918 (*Escherichia coli*) y U9815 (*Klebsiella pneumoniae*), exhibieron perfiles de multirresistencia (MDR) siendo ambos aislados sensibles a amikacina.

Resultados: Ambos aislamientos fueron portadores de blaNDM-1 y mcr-1. Por su lado el aislado E. coli H6918 tiene además, una variedad de genes que confieren resistencia a los β-lactamicos (blaCTX-M-grupo 1), fluoroquinolones (qnrB) y fosfomicina (fosA3). El aislado K. pneumoniae U9815 posee además múltiples genes que confieren resistencia a los betalactámicos (blaCTX-M-grupo-1y grupo-2), fluoroquinolones [aac(6')-Ib-cr].

Conclusiones: En conclusión, presentamos el primer reporte de aislamientos de enterobacterias resistentes a colistina por mcr-1 que también albergaban blaNDM-1, revelando la coexistencia de estos dos marcadores en aislados de Perú. Esta combinación de mecanismos en un mismo patógeno humano es preocupante, ya que compromete el uso de los antibióticos de último recurso.

CAM - Bacteriología básica

MI 029

0192 - ACCIÓN DE UNA NEUROTOXINA BOTULÍNICA PROVENIENTE DE UNA CEPA DE *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* DE MENDOZA SOBRE CÉLULAS DE CARCINOMA MAMARIO (MCF 7)

CABALLERO, Patricia [1] | CARVELLI, Lorena[2] | CHAPANA, Agostina[3] | SOSA PAREDES, Esteban[1] | SOSA ESCUDERO, Miguel[4]

ÁREA MICROBIOLOGÍA, DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA, FCMÉDICAS, UNCUYO [1]; INSTITUTO DE HISTOLOGÍA Y EMBRIOLOGÍA. CONICET. MENDOZA [2]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES DE LA UN DE CUYO [3]; INSTITUTO DE HISTOLOGÍA Y EMBRIOLOGÍA. CONICET. MENDOZA [4]

Introducción y Objetivos: La neurotoxina botulínica (NTBo) producida por *Clostridium botulinum*, causante del botulismo, es también utilizada para el tratamiento de múltiples enfermedades neurológicas, especialmente la del serotipo A. Actualmente se está evaluando su potencial acción en la terapia del cáncer. En estudios previos hemos demostrado que las NTBo serotipo A provenientes de cepas autóctonas de suelos (Su) poseen características diferentes a la de la cepa de referencia A Hall, esta última es la utilizada en el fármaco Botox ®. Entre esas características encontramos una mayor actividad tóxica específica (AE), importantes diferencias en la estructura molecular y en la actividad enzimática frente a proteínas SNARE.

Materiales y Métodos: Se utilizaron dos NTBos serotipo A en sus complejos nativos, una proveniente de la cepa de Su 1935 y la otra de la cepa A Hall, ambas purificadas por precipitación salina. Se les determinó AE ($DL^5 0$/mg proteína) (Reed y Muench/ Lowry) y se estudió las características electroforéticas en condiciones no desnaturalizante (nativa) en geles de poliacrilamida al 6%. Las células MCF7 de carcinoma mamario se cultivaron en cubreobjetos e incubaron con 250 y 500 $DL^5 0$ de las NTBos durante 10, 25, 45 y 90 min respectivamente. Luego de las incubaciones, las células fueron fijadas y permeabilizadas con saponina. Como anticuerpos primarios se utilizaron anti-tubulina o anti-Golgina 97 y como secundario se utilizó un anti mouse-Alexa 488. Los núcleos fueron teñidos con Hoescht y los preparados visualizados mediante microscopía de fluorescencia.

Resultados: A los 90 min de incubación con 250 $DL^5 0$ de NTBo se observó que ~90 % de las células se desprendieron y deformaron por la acción de la NTBo de Su 1935 y ~40% para la NTBo A Hall, mientras que con 500 $DL^5 0$ ambas toxinas fueron deletéreas para las células. Cuando las células fueron incubadas con las toxinas durante 25 min se observó una mayor desorganización celular con la NTBo de Su 1935 que con la A Hall, manifestándose en una redistribución del aparato de Golgi y la aparición de múltiples zonas con alta densidad de marcación de tubulina. En todos los casos las células testigo permanecieron normales.

Conclusiones: Estos resultados muestran una acción citotóxica de las NTBo con desorganización de los microtúbulos celulares, observándose con mayor intensidad en las células tratadas con la NTBo proveniente de la cepa autóctona de Su. Por otra parte, estudios preliminares de nuestro laboratorio mostraron que la NTBo de Su 1935 degrada actina de homogenatos de cerebro de rata. A partir de este estudio se abren perspectivas de investigación particulares frente a la escasa literatura sobre el efecto de NTBo serotipo A en células tumorales y su mecanismo de acción.

MI 030

0195 - CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *ESCHERICHIA COLI* UROPATÓGENAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO AISLADAS DE ADULTOS MAYORES RESIDENTES DE INSTITUCIONES DE CUIDADO DE LARGO PLAZO EN LIMA, PERÚ

GONZALES RODRIGUEZ, Arturo Octavio [1] | INFANTE VARILLAS, Stefany Fiorella[2] | REYES FARIAS, Carlos Ignacio[3] | LADINES FAJA, Cesar Enrique[4]

CATEDRA DE BIOQUÍMICA, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE PIURA. [1]; CATEDRA DE MICROBIOLOGÍA, FAACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE PIURA [2]; FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE PIURA [3]; FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE PIURA [4]

Introducción y Objetivos: La infección del tracto urinario (ITU) es la segunda infección más frecuente en población adulta mayor (PAM) institucionalizada. *Escherichia coli* es el agente etiológico en el 80% de los casos. En las instituciones de cuidado de largo plazo (ICLP), debido a la alta prevalencia de infecciones en la población que albergan, se hace uso extendido de antibióticos, especialmente de tipo betalactámicos. Esto somete a *E. coli* a una fuerte presión selectiva, favoreciendo la adquisición de genes de resistencia productores de BLEE, como *bla*CTX–M, *bla*SHV y *bla*TEM. Además, se sabe que las bacterias productoras de BLEE presentan un mayor número de factores de virulencia, lo cual determina la gravedad de la infección. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de genes de resistencia y virulencia en *E.coli* uropatógenas positivas a BLEE aisladas de PAM residentes en ICLP.

Materiales y Métodos: El estudio fue de tipo descriptivo transversal, en donde se aislaron 31 cepas de *E. coli* uropatógenas, recolectadas en el año 2018, provenientes de 5 ICLP de Lima, Perú. Se realizó la identificación bacteriana mediante pruebas bioquímicas (TSI, LIA, Citrato, SIM y RV/MP) y la determinación fenotípica de BLEE por el método de Jarlier. Posteriormente, se identificaron los genes de resistencia *bla*CXT-M y *bla*TEM y de virulencia (*alfa-hly, chuA, aer, cnf1, sfa, pap GI, pap GII, papa GIII, nanA* y *TcpC*)) por PCR convencional. Los resultados se analizaron mediante tablas de frecuencia con el software Microsoft Office Excel 2016.

Resultados: En relación a los genes de virulencia de exotoxinas, se determinó que el 54,8% (17) presentó el gen *alfa-hly*, 38,7% [12] el *cnf-1* y 0,0% el *TcpC*. Con respecto a los genes asociados al metabolismo del hierro, *chuA* estuvo en el 100% (31), *aer* en el 93,5% (29) y *iucC* en el 51,6% (16). El gen *pap G II*fue el único de adhesión encontrado en un 51,6% (16) de las cepas y el gen *nanA*, asociado al metabolismo energético, se encontró en el 100% (31) de las *E.coli* aisladas. En cuanto a los genes de resistencia, *bla*CXT-M estuvo presente en el 51,6% (16) y el *bla*TEM 58% (18).

Conclusiones: La presencia del gen *pap GII* en más de la mitad de las *E. coli* aisladas nos sugiere un alto riesgo de pielonefritis. Además, la presencia generalizada del gen *nanA*, necesario en procesos de septicemia, y la elevada frecuencia de los genes relacionados a exotoxinas (alfa-*hly* y *cnf-1*), nos indica un potencial riesgo de sepsis en la PAM residente en ICLP. En concordancia con otros estudios, se observa una alta frecuencia de *bla*CXT-M, aunque no podemos concluir que las frecuencias detectadas correspondan en su totalidad a genes de tipo BLEE. Finalmente, las *E.coli* causantes de ITU en ICLP evidencian un alto potencial patogénico y con una distribución homogénea de genes de resistencia.

MI 031

0196 - MARCADORES DE RIESGO EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

GONZALEZ GALLINI, Julieta | TORESANI, Inés | LIMANSKY, Adriana

CÁTEDRA DE BACTERIOLOGÍA, DPTO. MICROBIOLOGÍA, FACULTAD DE CS. BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS. UNR

Introducción y Objetivos: *Streptococcus agalactiae* (EGB) es un patógeno fundamentalmente asociado a infecciones neonatales, puerperales e infecciones invasivas en el adulto. Eritromicina (eri) o clindamicina (cli) son tratamientos alternativos en pacientes alérgicos a penicilina. Los mecanismos de R a eri son: a- producción de metilasa modificadora del sitio blanco, codificada por genes *erm*, que conlleva la R a lincosamidas y streptograminas (MLS_B), siendo su expresión fenotípica constitutiva (MLSc) o inducible (MLSi), y/o b- mecanismo de eflujo, codificado por *mef* (fenotipo M). Por otra parte, se ha descripto R a cli por inactivación enzimática, gen *lnu* (fenotipo L). La severidad de los procesos infecciosos invasivos, estaría determinada en gran parte por proteínas de superficie (PS) necesarias para la interacción de EGB con las células del

hospedador. Entre las PS tienen suma importancia: a- el antígeno C, compuesto por las proteínas a-C (gen *bca*) y ß-C (gen *bac*). EGB puede expresar una u otra o ambas; b- ScpB, C5a peptidasa con actividad de invasina (gen *scp*B) y c- lmb, proteína de unión a laminina, codificada por *lmb*. Los objetivos de este trabajo fueron: evaluar la presencia de *erm*A, *erm*B, *mef*A y *lnu*B en aislamientos de EGB R a eri y/o cli; establecer la relación clonal de los mismos; y estudiar los genes de virulencia (V): *bca*,*bac*,*scp*B *lmb*.

Materiales y Métodos: Se incluyeron 57 aislamientos de EGB resistentes a eri y/o cli, caracterizados mediante método de difusión en agar, y los mecanismos de R MLS mediante Test de Doble Disco (TDD). Los genes de R y V fueron analizados por ensayos de PCR y secuenciación, y la clonalidad mediante OD-PCR.

Resultados: El TDD determinó un total de 48 aislamientos con fenotipo MLS_B, 26 MLSi y 22 MLSc, además 7 M y 2 L. Llamativamente en 2/26 MLSi, el inductor del mecanismo fue cli. Los ensayos de PCR y secuenciación detectaron *erm*A en 38/48 EGB con fenotipo MLS_B, según, 21/26 MLSi y en 17/22 MLSc. Por su parte *erm*B, se observó en 23/48 EGB con fenotipo MLS_B, estando presente en 14/26 MLSi y en 9/22 MLSc. Asimismo, se detectó *mef*A en 21 EGB, 7 con fenotipo M y en 14 MLSc y *lnu*B en 5 EGB R a cli, 2 con fenotipo L y 3 MLSc. Es interesante comentar que 18/22 EGB MLSc, presentaron al menos dos genes de R, a saber, 9 EGB, *erm* A y *mef*A, 4 *erm*B y *mef*A, 3 *erm* A y *erm*B, 1 *erm*B, *lnu*B y *mef*A, y otro los cuatro genes estudiados. Además, 8/26 EGB MLSi, presentaron *erm*A y*erm*B simultáneamente. OD-PCR permitió distinguir 19 clones diferentes: A-S, sin embargo, uno de ellos se mostró con predomino: clon E 13/57 EGB, seguidos por M 8/57 y F 6/57. Se analizó los genes de V en los clones E y F, por ser los mayoritarios y por presentar además mayor número de combinaciones de genes de R. Los clones seleccionados presentaron tanto *lmb* como *scp*B, el 69% *bca* y ninguno *bac*.

Conclusiones: Estos datos muestran: a) fenotipo MLS es la más frecuente; b) elevada diversidad clonal, c) coexistencia de distintos genes de R y d) amplia distribución de *lmb*, *scp*B y *bca* en los clones estudiados.

MI 032

0310 - FACTORES DEL HOSPEDADOR QUE INFLUYEN EN LA EVOLUCIÓN CLÍNICA FRENTE A LAS INFECCIONES CON CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICAS

BERNAL, Alan Mauro [1] | FERNÁNDEZ BRANDO, Romina[1] | ZOTTA, Elsa[2] | BRUBALLA, Andrea[1] | MONTAÑEZ, Johanna[1] | VERMEULEN, Mónica[1] | PINEDA, Gonzalo[1] | RAMOS, María Victoria[1] | ERREA, Agustina[3] | RUMBO, Martín[3] | PALERMO, Marina[1]

INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL CONICET - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA [1]; LABORATORIO DE FISIOPATOGENIA, DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA, UBA [2]; INSTITUTO DE ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS Y FISIOPATOLÓGICOS (IIFP, UNLP-CONICET) [3]

Introducción y Objetivos: Las infecciones con *Escherichia coli* enterohemorrágico productor de toxina Shiga (Stx), producen un amplio rango de enfermedad, desde la portación asintomática hasta el síndrome urémico hemolítico (SUH). Las *E. coli* O157:H7 (O157) son las cepas más asociadas con enfermedad severa. Habiendo observado que la cepa de ratones C57BL/6 (C57) presenta una peor evolución frente a la infección con O157 respecto a la cepa BALB/c (BALB), nuestro objetivo fue analizar la base de dicha respuesta diferencial.

Materiales y Métodos: Se utilizó el modelo de infección por vía oral de ratones BALB y C57 al destete (17-19 días) con O157 aislada de un paciente con SUH. Se realizaron curvas de sobrevida con dosis letales y 72 h postinfección se midió la colonización (UFC/cm) en intestino grueso (IG) y delgado (ID), la urea plasmática (mg%) como indicador de daño renal secundario a Stx, porcentaje de polimorfonucleares (%PMN), histología intestinal y renal, y análisis funcionales de la integridad intestinal. En otro grupo de ratones BALB y C57 se evaluó la sobrevida, urea plasmática y %PMN frente a la inyección endovenosa (e.v.) de Stx (2 ng/ratón).

Resultados: Al comparar las curvas dosis (UFC/g ratón) vs respuesta (Urea mg%), se observó que los BALB muestran una correlación positiva (a > inóculo, > urea; r=0,69, p<0.05), mientras que los C57 muestran ureas altas aún con dosis bajas de inóculo (no hay correlación; r=0,06). Frente a la infección con 2,5 $x10^10$ UFC de O157/ratón, las ureas en los BALB son normales y menores que en los C57 (BALB: 29±3; C57: 128±26; p<0.01). Los BALB presentan un aumento significativo de %PMN comparado con los controles sin infectar (S/I) (BALB: 37±3%; BALB S/I: 17±5%; p<0.05) y con los C57 infectados (C57: 8±4, p<0.001). Las curvas dosis (UFC/g ratón)-respuesta (log_10 UFC/cm) de ID e IG, muestran una correlación positiva en ambas cepas para cada segmento (> dosis, > colonización) (BALB: IG r=0,97, p<0,0001; ID r= 0,95, p<0,0001; C57: IG r=0,88, p<0,01; ID r=0,75, p<0,05). Sin embargo, los C57 mostraron mayor permeabilidad intestinal comparada con sus controles (p<0.0001) y con los BALB infectados (p<0.0001). Análisis histológicos muestran en ID e IG de los C57 depleción de células caliciformes y sitios apoptóticos, y riñones con lesiones compatibles con Stx. En los BALB, tanto el ID, IG y riñones se ven conservados. Frente a la Stx e.v., ambas cepas no muestran diferencias significativas en la curva de sobrevida, ni en los valores de urea (BALB: 239±28; C57: 218±19), mostrando ambas cepas aumento en el %PMN respecto a su control (c) (BALB: 71±5*; c: 20±4*; C57: 40±6#, c: 10±5#; *p<0,0001 y #p<0.01).

Conclusiones: Concluimos que la mayor susceptibilidad de la cepa C57 no se debe a una mayor sensibilidad a la Stx ni a mayor colonización, sino a un mayor daño intestinal frente al mismo nivel de colonización

bacteriana. La diferencia en el %PMN postinfección entre ambas cepas sugiere una respuesta inflamatoria diferencial que podría participar en el daño intestinal.

MI 033

0305 - ESTUDIO IN VITRO DE LA PATOGENICIDAD DE *SALMONELLA HADAR* Y *SALMONELLA HEIDELBERG* EN LÍNEAS CELULARES AVIARES Y HUMANAS

MARTINEZ, Federico | ANGELONI, Agustina | SANCHEZ COLUCCI, Agustina | ZULOAGA, Leila | LOPEZ DE ARMENTIA, Maria Milagros

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA, UNIVERSIDAD JUAN AGUSTÍN MAZA

Introducción y Objetivos: *Salmonella entérica* serotipo *hadar* y *heidelberg* son bacilos gramnegativos intracelulares aerobios y móviles, agentes causales de la salmonelosis (Chen et al, 2013). La principal fuente de infección en humanos incluye el consumo de productos avícolas contaminados (Antunes et al, 2016). La salmonelosis en humanos se caracteriza por presentar una gastroenteritis auto-limitada, caracterizada por diarrea, fiebre y dolor abdominal. Recientemente, se ha demostrado que dichos serotipos son los principales microrganismos que producen infección en aves de corral en Estados Unidos y Canadá (Hoffmann et al, 2014; Foley et al 2011). En Argentina también se ha reportado un caso de *S. Heidelberg* en un paciente hospitalizado en Buenos Aires (Cejas et a,l 2014). Además, se ha reportado una alta resistencia al tratamiento con antimicrobianos (Clemente et al 2015; Gonzalez y Araque 2013). Sin embargo, escasa es la información de su patogenia

Resultados: En el siguiente trabajo, caracterizamos el crecimiento de los serotipos *Hadar* y *Heidelberg* en distintos medios de cultivo bacteriológico. Observamos las características de las colonias en agar Salmonella/Shigella (SS), Cistina-lactosa deficiente en electrolitos (CLDE) y Luria Bertani Broth. Utilizando la técnica de antibiograma en placas de Mueller Hinton con diferentes discos de antibióticos, determinamos que ambas cepas son sensibles a: Azitromicina, Levofloxacina y Cloranfenicol. Por el contrario, observamos resistencia a ampicilina, ampicilina-sulbactam y gentamicina. Por otro lado, se utilizaron células de fibroblasto de codorniz (QM7) y adenocarcinoma de colon humano (SW480) para evaluar la infectividad de dichas bacterias. Las células se crecieron y luego fueron infectadas con *Salmonella hadar* y *heidelberg* a diferentes tiempos. Luego analizamos la replicación mediante recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), y observamos que ambas cepas son capaces de infectar dichas líneas celulares.

Conclusiones: Estos datos aportan una herramienta para el tratamiento de la salmonelosis causada por dichas cepas en la industria avícola y la salud humana. En las perspectivas de nuestro trabajó está determinar los mecanismos moleculares asociados a la infección en aves y su transmisión a humanos.

MI 034

0328 - PARTICIPACIÓN DEL PIGMENTO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN LA FOTOINACTIVACIÓN BACTERIANA

DIAZ, Rocio Ester [1] | SULIGOY, Carlos Mauricio[1] | SAENZ, Daniel[2] | CACERES, Maria Emilia[1] | CALVO, Gustavo[2] | QUIROGA, Ezequiel[2] | GIACOMODONATO, Monica[1] | SODELLI, Daniel[1] | CASAS, Adriana[2] | BUZZOLA, Fernanda[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA [1]; CENTRO DE INVESTIGACIONES SOBRE PORFIRINAS Y PORFIRIAS (CIPYP) [2]

Introducción y Objetivos: La fotoinactivación bacteriana (FIB) utiliza una molécula fotosensibilizante para generar especies reactivas de oxígeno luego de absorber un fotón de luz. El pigmento estafiloxantina (STX) es un carotenoide presente en las colonias de *S. aureus*. La estructura molecular de la STX sugiere que podría actuar como una molécula fotosensibilizante endógena para la FIB o podría estar protegiendo a *S. aureus* de la FIB debido a sus propiedades antioxidantes. En éste trabajo se estudió la respuesta de *S. aureus* mediada por STX frente a la FIB utilizando azul de toluidina (AT) como fotosensibilizante.

Materiales y Métodos: Se utilizaron cinco cepas de *S. aureus* con diferente grado de pigmentación. Los extractos metanólicos de STX se obtuvieron de suspensiones bacterianas con igual densidad óptica (DO) y se cuantificaron espectrofotométricamente a 450 nm. Para la FIB se iluminaron las suspensiones de *S. aureus* en presencia de AT (50 µM) con una fuente de luz no coherente en presencia o ausencia de STX agregada exógenamente. Las bacterias viables se cuantificaron por siembra en agar tripteína de soja (TSA) y recuento de las UFC/ml. La respuesta al estrés oxidativo con H2O2 se determinó inmediatamente después del tratamiento de FIB.

Resultados: Para las diferentes cepas, se obtuvieron las siguientes DO450 de los extractos de STX: SH1000 (0,47±0,05), Sa14P (0,45±0,12), Sa14 (0,21±0,03), RN6390 (0,16±0,09) y RN6011 (0,09±0,02). El cultivo

líquido propició una mayor producción de pigmento respecto del cultivo en medio sólido. Los espectros de absorción de los extractos metanólicos fueron similares entre las cepas con similar pigmentación de sus colonias. Para SH1000, RN6390, Sa14 y Sa14P, la FIB mediada por AT redujo el número de UFC/ml entre 4 y 6 órdenes de magnitud en comparación con los controles. El agregado exógeno de STX previo a la FIB mediada por AT indujo un efecto protector, reduciendo sólo en un orden de magnitud las UFC/ml de las cepas RN6911 (colonia blanca) y SH1000 (colonia naranja). Interesantemente, las células bacterianas incubadas con STX exógena y que sobrevivieron a la FIB mediada por AT resistieron el estrés oxidativo del H2O2, mostrando valores de UFC/ml similares a aquellos de la condición control. En contraste, la exposición al H2O2 destruyó las pocas células bacterianas viables después del tratamiento de FIB en ausencia de STX exógena.

Conclusiones: En conjunto, los resultados sugieren que la STX protege a *S. aureus* de la FIB mediada por AT. La capacidad antioxidante del pigmento podría ser responsable de esta protección.

MI 035

0412 - ANÁLISIS DE LAS ESTRUCTURAS GENÉTICAS DE LAS ISLAS DE PATOGENICIDAD DE TIPO IV_{536} EN GENOMAS DE *ESCHERICHIA COLI*

PIRAJAN, Daniela | MUCCI, Sofía | **COLLIVADINO, Leandro** | QUIROGA, Cecilia

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (UBA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Las Islas de Patogenicidad (IPAs) son plataformas genómicas de entre 10 a 200 Kbp que contienen genes que pueden codificar para factores de virulencia. Estas estructuras se insertan frecuentemente río abajo de ARNs de transferencia, están flanqueadas por secuencias repetidas, poseen un porcentaje de bases G+C diferente al genoma en el que se encuentran y pueden contener genes de virulencia, elementos genéticos móviles y genes accesorios. Las IPAs son plataformas dinámicas que pueden sufrir modificaciones o eliminarse del genoma bacteriano. Las primeras islas estudiadas correspondieron a las IPAs I_{536}, II_{536}, III_{536} y IV_{536} de la cepa uropatógena *Escherichia coli* 536. La virulencia de los distintos aislamientos de *E. coli*proviene en gran parte de los genes codificados en las distintas IPAs.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 172 genomas completos de los distintos virotipos de *E. coli* publicados en la base de datos Genbank. Se detectaron las IPAs I_{536}, II_{536}, III_{536} y IV_{536} utilizando las secuencias de las respectivas integrasas mediante blastp. La relación entre las integrasas de cada IPA fue analizada mediante la construcción de árboles filogenéticos usando el programa MEGA V7 y el método de neighbor-joining con 1000 *bootstraps*. Se realizó el análisis comparativo de cada IPA detectada mediante los programas ACT y MAUVE, lo que permitió definir los entornos y se buscó el perfil alélico de cada aislamiento con el programa MLST o en la Enterobase.

Resultados: De un total de 172 genomas completos de *E. coli*, 85 presentaron por lo menos una de las 4 IPAs estudiadas en el presente trabajo. Las plataformas más prevalentes fueron las IPAs II_{536} (68.6%) y IV_{536} (53.5%), mientras que las IPAs I_{536} y III_{536} se encontraron en menor proporción (39% y 42.6%, respectivamente). La mayoría de las IPA III_{536} tenían su integrasa deletada (87.5%) pero mantenían el resto de la plataforma. El análisis detallado de las estructuras genéticas de cada IPA evidenció que la IPA IV_{536} es la plataforma más conservada mientras que las otras tres poseen una gran plasticidad, donde se observaron la sustitución o adquisición de regiones portadores de genes de virulencia o de elementos genéticos móviles. El análisis conjunto de las plataformas mostró que la conservación de las islas y la estabilidad de su contenido genético varía en los diversos grupos clonales.

Conclusiones: La elevada ocurrencia de IPAs del tipo 536 en genomas bacterianos evidencia la importancia de estas plataformas en la virulencia de *E. coli*. La gran variabilidad en la distribución y en las estructuras genéticas de las distintas IPAs refleja la versatilidad del genoma de esta bacteria así como su constante evolución y adaptación. # Las dos primeras autoras contribuyeron equitativamente en el trabajo.

CAM - Bacteriología clínica

MI 036

0032 - CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE ORGANISMOS MULTIRRESISTENTES A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES EN INSTITUCIÓN PRIVADA DE ALTA COMPLEJIDAD DE LA CIUDAD DE ROSARIO

BASTONE, Laura [1] | PEREZ, Germán Roberto[2] | GRANADOS, Graciela[3] | MÓNICA, Borgo[3] | FRANCO, Yubelly[3] | DI SANTOLO, Analía[3] | GUARDATI, María Cristina[3] | TORRUELLA, Mónica[1]

GAMMALAB (GRUPO GAMMA) [1]; FAC. CS BIOQ. Y FARM. (UNR) / GAMMALAB (GRUPO GAMMA) [2]; HOSPITAL PRIVADO DE ROSARIO (GRUPO GAMMA) [3]

Introducción y Objetivos: Una de las estrategias para el control de transmisión de organismos multirresistentes (OMR) es la búsqueda de enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) en hisopados anales, al ingreso del paciente al nosocomio y durante su internación. Las EPC son patógenos emergentes a nivel mundial causantes de numerosos brotes intrahospitalarios. La identificación de las carbapenemasas (CBPN) más frecuentes (KPC, OXA-48, IMP, VIM y NDM) y la tipificación genotípica de los OMR, permiten evaluar colonización en pacientes portadores e implementar acciones de contención. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las cepas de OMR en los pacientes de una institución privada de alta complejidad de la ciudad de Rosario, empleando métodos fenotípicos y genotípicos.

Materiales y Métodos: Se utilizaron muestras de hisopado rectal que se obtuvieron al momento de la admisión, si el paciente provenía de otra institución, o luego de los 7 días de internación. Periodo: Junio/2017 a Febrero/2019. Para la caracterización fenotípica se siguieron las recomendaciones del CLSI [medios cromogénicos selectivos + antibiograma (ATB) + BLUE CARBA o THT]. Se estudió en los aislados sospechosos de EPC la presencia de KPC-2, OXA-48, IMP, VIM y NDM mediante PCR en tiempo real. Las cepas OMR fueron genotipificadas utilizando 2 ensayos de RAPD-PCR (Random amplified polymorphic DNA-PCR) y luego analizadas filogenéticamente (GelJ v.2.0).

Resultados: Se estudiaron 754 pacientes [347 M / 407 F; 67,3 (18,0 – 90,1) años] de los cuales 32 (4,24%) estaban colonizados con OMR: K. pneumoniae (15), P. aeruginosa [10], E. coli [3] y E. cloacae [4]. Se detectaron 18 EPC con KPC-2 *K. pneumoniae* [11], *P. aeruginosa* [1] *[aislado B15], E. coli* [2], *E. cloacae* [4] y 1 EPC con OXA-48 *K. pneumoniae* [1] *[aislado B67]*. Los productos amplificados de los aislados B15 y B67 fueron secuenciados y se confirmó la presencia de KPC2 y OXA-48, respectivamente. No se evidenció presencia de IMP, VIM y NDM. Se realizaron las RADP-PCR (cebadores c208/c272 y c10514/c14306) a los OMR aislados. El análisis bioinformático (Similarity method: Band difference; Linkage: Mean linkage) evidenció que el sistema c208/c272 proporcionó una mayor variabilidad de bandas obteniéndose patrones polimórficos que permitieron caracterizar genéticamente a los OMR estudiados. Se consideró un posible episodio de transmisión intrahospitalaria cuando los aislamientos pertenecientes a la misma especie, en diferentes pacientes, tuvieron ATB y perfiles de bandas similares. Los OMR con características fenotípicas y ATB similares mostraron diferentes perfiles de amplificación con el sistema c208/c272.

Conclusiones: La caracterización de los OMR (detección molecular de CBPN y genotipificación) permitió monitorear, de manera rutinaria, la transmisión cruzada entre pacientes colonizados y así evaluar las estrategias de intervención y control adoptadas. No se registraron diseminaciones de OMR en las unidades de internación de la institución.

MI 037
0052 - BROTE DE SHIGELLOSIS EN LA CIUDAD DE BARILOCHE

RUBINSTEIN, Gabriela [1] | SIRVENT, Julia[2] | SUAREZ, Laura Ines[3] | WILGENHOFF, Lorena[4] | PARSONS, Graciela[4]

HOSPITAL PRIVADO REGIONAL / SANATORIO SAN CARLOS/ LABORATORIO ESPECIALIZADO DEL SUR, BARILOCHE [1]; HOSPITAL PRIVADO REGIONAL/ SANATORIO SAN CARLOS [2]; LABORATORIO ESPECIALIZADO DEL SUR [3]; SANATORIO SAN CARLOS BARILOCHE [4]

Introducción y Objetivos: La Shigellosis es una infección caracterizada por diarrea aguda que puede progresar a un cuadro de deposiciones mucosas y sanguinolentas con fiebre, e incluso requerir hospitalización. La vía de infección predominante es fecal-oral por contacto persona a persona pero existen otras vías de diseminación como la ingesta de agua y alimentos contaminados. En nuestro ámbito de trabajo, es una infección que presenta baja incidencia, con un promedio de 5 aislamientos al año. El objetivo de este estudio fue describir un brote de diarrea asociado a *Shigella sp.* que afectó a Bariloche en 2018.

Materiales y Métodos: Del 1 de Febrero al 31 de Marzo fueron procesados 521 coprocultivos en tres laboratorios privados de análisis clínicos de nuestra ciudad. La identificación de enteropatógenos y las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos fueron realizadas por métodos manuales.

Resultados: Durante este período se obtuvo un total de 112 aislamientos de *Shigella sp*. Los aislamientos provinieron de pacientes en su mayoría adultos jóvenes, cuya edad promedio fue de 30 años (mediana=30, modo=37 y rango 2 a 77), 57% mujeres y 43% hombres. La serotipificación de los aislamientos confirmó la identificación bioquímica como *Shigella sonnei* Todas presentaron idéntico antibiotipo: resistentes únicamente a ampicilina y a trimetoprima-sulfametoxazol.

Conclusiones: Los casos fueron notificados al Hospital Zonal Bariloche, en donde se habían obtenido escasos aislamientos. El personal de la Unidad Regional de Epidemiologia y Salud ambiental (URESA) zona Andina procedió a realizar encuestas telefónicas no pudiendo identificar actividad, domicilios ni alimentos en común implicados y en consecuencia solicitando el aumento de cloración para el agua de red y la realización de comunicados de prensa con medidas preventivas. El número de aislamientos recuperados bajó significativamente a partir de abril con 5 casos, 5 en Mayo, y solamente un aislamiento en Junio. Si bien las autoridades no detectaron la contaminación en agua de red, la diversidad de la población afectada respecto a

ámbitos sociales, domiciliarios, edades, etc., sugieren la ingesta de agua contaminada como la fuente más probable de infección. Bariloche es una ciudad que ha tenido un rápido crecimiento poblacional, con insuficiente infraestructura, incluyendo la relacionada con el tratamiento de líquidos cloacales. Destacamos la importancia de una comunicación fluida entre el ámbito privado de salud y las autoridades de Salud Pública que permitieron la toma de medidas de control.

MI 038

0060 - UTILIZACIÓN DE ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA Y ANÁLISIS MULTIVARIANTE PARA IDENTIFICAR AISLAMIENTOS DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* TIPO CAPSULAR B

SANTOS, Mauricio [1] | MARTORELLI, Luisina[1] | EFRON, Adriana[1] | GERBINO, Esteban[2] | GOMEZ-ZAVAGLIA, Andrea[2]

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN CRIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (CONICET-LA PLATA) [2]

Introducción y Objetivos: *Haemophilus influenzae* (*Hi*) es un patógeno humano responsable de numerosas infecciones invasivas como meningitis, neumonía, bacteriemia, osteoartritis, celulitis y sepsis. Las cepas capsuladas de *Hi* expresan uno de seis polisacáridos antigénicamente diferentes (a, b, c, d, e, f), que pueden ser identificados utilizando antisueros específicos. También existen cepas no capsuladas (*Hi*NC), que no pueden ser tipificadas fenotípicamente. La introducción de la vacuna contra Hi tipo capsular b (*Hi*b) en el Programa Nacional de Inmunización de Argentina en 1998 produjo una drástica disminución de enfermedad invasiva causada por este serotipo y aumento de la producida por *Hi*NC y otros tipos capsulares. Sin embargo, desde 2009 se observa un incremento sostenido de la incidencia de enfermedad causada por *Hi*b. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método de elección para determinar el tipo capsular de *Hi*. Sin embargo, esta técnica resulta engorrosa y es altamente sensible a contaminantes, por lo que requiere rigurosos esquemas de trabajo. El objetivo de este trabajo fue desarrollar modelos basados en espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR) y análisis discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA) para identificar aislamientos de *Hi*b.

Materiales y Métodos: Para construir los modelos, se utilizaron 54 aislamientos de Hi tipificados por PCR (9 de cada tipo capsular) correspondientes a pacientes pediátricos y adultos con enfermedad invasiva. Se registraron los espectros FTIR de cada aislamiento, por triplicado, en la región del infrarrojo medio (4000-500 cm-1). Para cada muestra, se realizaron 128 escaneos con una resolución de 4cm-1. En un primer paso se realizó un análisis de componentes principales para observar la distribución de los serotipos a partir de las diferencias espectrales observadas en el gráfico de *Loadings*. Luego se desarrollaron dos modelos PLS-DA utilizando sets independientes de datos (100 espectros para la calibración y otros 100 para la validación).

Resultados: El primer modelo permitió discriminar los serotipos b, c y e respecto de los serotipos a, d y f. El segundo modelo se realizó sobre los aislamientos de serotipo b, c y e y logró identificar a las cepas de tipo capsular b. Los parámetros estadísticos que describen dichos modelos demuestran la robustez de los mismos.

Conclusiones: De esta manera se puede concluir que el uso combinado de la espectroscopía FTIR y el análisis multivariante permiten discriminar los aislamientos de *Hi*b. Teniendo en cuenta que corresponde al serotipo inmunoprevenible y a su reemergencia, la determinación del mismo de manera rápida, precisa y económica contribuye a mejorar la vigilancia epidemiológica de enfermedad invasiva causada por este microorganismo.

MI 039

0069 - PREVALENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA (STEC) EN LA MICROBIOTA ENDOCERVICAL DE EMBARAZADAS DE PRIMER Y SEGUNDO TRIMESTRE.

SCALISE, M.Lujan [1] | SANZ, Marcelo[2] | ETCHEVERRIA, Analia[2] | PADOLA, Nora Lia[2] | LEONINO, Patricia[3] | PEREYRA, Adriana[4] | CASALE, Roberto[5] | FERREIROS, José A.[6] | VILTE, Daniel Alejandro[7] | SACERDOTI, Flavia[8] | IBARRA, Cristina[9]

LABORATORIO DE FISIOPATOGENIA, DEPARTAMENTO DE CS. FISIOLÓGICAS, IFIBIO-HOUSSAY (UBA-CONICET) [1]; CIVETAN (CENTRO DE INVESTIGACIÓN VETERINARIA TANDIL), CONICET [2]; DEPARTAMENTO DE OBTETRICIA, HOSPITAL NACIONAL "PROF. A. POSADAS" [3]; DEPARTAMENTO DE OBTETRICIA, HOSPITAL NACIONAL "PROF. A. POSADAS" [4]; DEPARTAMENTO DE OBTETRICIA, HOSPITAL NACIONAL "PROF. A. POSADAS" [5]; DEPARTAMENTO DE OBTETRICIA, HOSPITAL NACIONAL "PROF. A. POSADAS" [6]; INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA VETERINARIA, CICVYA, (INTA-CONICET) [7]; LABORATORIO DE FISIOPATOGENIA, DEPARTAMENTO DE CS. FISIOLÓGICAS, IFIBIO-HOUSSAY (UBA-CONICET) [8]; LABORATORIO DE FISIOPATOGENIA, DEPARTAMENTO DE CS. FISIOLÓGICAS, IFIBIO-HOUSSAY (UBA-CONICET) [9]

Introducción y Objetivos: La colonización de la microbiota vaginal por parte de *E. coli* puede producir alteraciones en el desarrollo de la gestación *(Cools P, Res Microbiol 2017, 168:893)*. Nuestro grupo demostró que la toxina Shiga tipo dos (Stx2) producida por STEC daña la unidad útero-feto-placentaria de ratas gestantes y produce la interrupción de la preñez en ratas en etapa temprana y tardía de gestación *(Sacerdoti F et al Microorganisms 2018, 6:111)*. Además, Stx2 inhibe la migración, invasión y viabilidad del trofoblasto extravelloso humano *(Scalise ML et al. Reproduction 2018, 6:4)*. Estos hallazgos nos permiten hipotetizarque STEC, en la microbiota vaginal de mujeres embarazadas, podrían ser un factor de riesgo para el desarrollo de la gestación, la madre o el neonato. Nos propusimos entonces estudiar la prevalencia de STEC en el hisopado de endocervix de mujeres embarazadas que concurrieron al Servicio de Obstetricia del Hospital Nacional "Prof. A. Posadas".

Materiales y Métodos: Las muestras, pertenecientes a 103 mujeres de entre 14 y 30 semanas de gestación, se trasladaron al laboratorio en medio de Cary Blair, se enriquecieron en caldo de soja tríptico (TSB) y se sembraron en el agar MacConkey con sorbitol (SMAC). Luego de la incubación por 18 hs a 37°C se aplicó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para genes específicos de la especie E. coli *(uidA)*, rfb_{O157} para E. coli O157 y factores de virulencia de STEC. En los aislamientos positivos para stx_2 se evaluó la citotoxicidad por ensayos de viabilidad en células Vero. Para la identificación serológica se utilizaron antisueros monovalentes.

Resultados: En los aislamientos bacterianos se detectaron bacilos Gram negativos fermentadores de sorbitol en 16 de las 103 muestras. La caracterización genotípica indicó la presencia de *E. coli* en 15/103 (14,5%) siendo 9/15 positivas para Stx2 (60%). Todas las *E. coli* fueron rfb_{O157} y *eae* negativas. La caracterización serotípica identificó 3 *E. coli* O113 y 1 *E.coli* autoaglutinante. El sobrenadante filtrado de las STEC tuvo una actividad citotóxica significativa medida en células Vero

Conclusiones: Los resultados demostraron la prevalencia de *E.coli* patógenas en la microbiota de endocervix de mujeres embarazadas. La mayoría de ellas fueron positivas para Stx2 por PCR y presentaron una actividad citotóxica significativa en células Vero. Este hallazgo nos permite sugerir que la presencia de Stx2 en el endocervix vaginal podría producir daños irreversibles en las células trofoblásticas que llevarían a complicaciones durante la gestación.

MI 040

0079 - SITUACION DEL BOTULISMO POR HERIDA EN ARGENTINA (1992-2019)

CASTELLI, Edgardo | **FARACE, Maria Isabel** | RUGGERI, Diego | ROFRIGUEZ, Alicia Raquel

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Botulismo es una enfermedad neuroparalítica que ocurre por acción de toxinas producidas por Clostridium botulinum (Cb), potencialmente letal y tratable. Se identifican 7 tipos toxigénicos: del A al G. Los tipos A, B, E y eventualmente el F, afectan al humano, los tipos C y D a animales y el tipo G se encontró en suelos.

Materiales y Métodos: El diagnóstico se realizó investigando NTBo por el método de bioensayo en ratón en muestras de suero y de la herida, e identificación de esporas de Cb en material de la herida por cultivo en caldo Tarozzi por la consecuente producción de NTBo que se evidencia por inoculación en ratones. Para la determinación del tipo toxigénico se utilizan antitoxinas específicas.

Resultados: Entre los años 1992 y 2019 se reportaron y confirmaron por el laboratorio 9 casos de BH con las siguientes características: 6 correspondieron al sexo masculino, el rango de edad fue entre 6 y 50 años con una media de 28 y se registró una mortalidad de 33%. Los tipos de herida identificadas fueron: 1 cirugía, 2 heridas punzantes, 3 fracturas expuestas y 3 lesiones cicatrizadas. En 8 pacientes se identificó toxina tipo A y en el restante tipo B. Las provincias con casos notificados fueron: La Pampa, Entre Ríos, Santiago del Estero, Mendoza, Santa Fe, Salta y provincia de Buenos Aires.

Conclusiones: Siendo una forma de la enfermedad que se presenta con una importante mortalidad como consecuencia de la sospecha tardía, ya que no siempre se identifica o relaciona con la puerta de entrada, es necesario fortalecer la vigilancia para la detección y el tratamiento tempranos de los casos. Se debe realizar la debridación de la herida -aunque presente buen aspecto-, tratamiento antibiótico y administración de la antitoxina botulínica correspondiente, a fin de promover una evolución favorable del paciente disminuyendo la letalidad y la permanencia prolongada en unidad de cuidados intensivos con las complicaciones que esto implica.

MI 041

0091 - BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* CON SENSIBILIDAD DISMINUIDA HETEROGÉNEA A VANCOMICINA (H-VISA) A PUNTO DE PARTIDA DE CATÉTER VASCULAR (H-VISA)

LISSARRAGUE, Sabina | BERNSTEIN, Judith | STAGNARO, Juan Pablo | SCHELL, Celia | CÓRDOBA, Alejandra | MOLINA, Nora | VILA ROZA, Verónica | SPARO, Mónica

UNIVERIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Introducción: *Staphylococcus aureus* es uno de los principales agentes de bacteriemias adquiridas en los hospitales y está asociado a una elevada morbi-mortalidad. Esta bacteria representa un desafío para la salud pública por su virulencia y habilidad para desarrollar resistencia antimicrobiana. Para el tratamiento de las infecciones por *S. aureus* meticilina-resistente (SAMR) se utiliza vancomicina. Se han descrito cepas con sensibilidad disminuida (VISA, CIM_{van}: 4-8 µ;g/ml) y con sensibilidad disminuida heterogénea (h-VISA) que son sensibles (CIM_{van}: 1-2 µ;g/ml) pero que albergan subpoblaciones VISA. Se comunica la bacteriemia intra-tratamiento con vancomicina por SAMR fenotipo h-VISA, a punto de partida de catéter vascular.

Caso Clínico: En marzo de 2019 ingresó al Hospital Ramón Santamarina de Tandil (HRS) paciente, género masculino de 73 años con antecedentes de hipotiroidismo, cardiopatía isquémica, hipertensión arterial, fibrosis pulmonar y EPOC, por un cuadro de neumonía complicada con lesiones cavitadas compatibles con abscesos pulmonares, según estudios complementarios de TAC. Ecocardiograma sin patología. A las 24 h se recuperó en hemocultivo (2/2 muestras) SAMR con CIM_{van}: 1 µ;g/ml (sistema VITEK 2C, bioMérieux Argentina). Se le colocó un catéter vascular y se trató con vancomicina (dosis de carga y mantenimiento ajustadas a peso corporal). A los 12 días de tratamiento, paciente se encuentra afebril y lúcido, con persistencia de lesiones cavitadas pulmonares; se efectuaron hemocultivos de control (2 muestras) que resultaron negativos. Se continuó tratamiento con vancomicina. Intra-tratamiento, (20 días con vancomicina) presentó fiebre y escalofríos, recuperando en hemocultivo 1/2 muestras y punta de catéter (> 15 UFC) SAMR con CIM_{van}: 2 µ;g/ml (VITEK 2C). Se efectuó como prueba de tamizaje E-test GRD (detección de resistencia a glucopéptidos, Liofilchem®, Italia), obteniendo CIM_{van}: 2 µ;g/ml y CIM_{tei}: 8 µ;g/ml (Interpretación como h-VISA: CIM_{van} ó tei: ≥ 8 µ;g/ml) y se realizó el análisis del perfil poblacional (PAP) con el análisis del área bajo la curva (AUC) del aislamiento en estudio, *S. aureus* ATCC 700698 (h-VISA) y *S. aureus* ATCC 25923 (sensible a vancomicina). Se observó un cociente AUC aislamiento en estudio/*S. aureus* ATCC 700698: 0,97 (h-VISA, cociente AUC: 0,90-1,30) validando fenotípicamente el aislamiento como h-VISA. Se inició tratamiento con linezolid (CIM_{lzd}: 2 µ;g/ml, VITEK 2C). A los 30 días posteriores a su internación el paciente egresó del HRS, afebril, estable pero con persistencia de lesiones cavitadas, continuando tratamiento domiciliario.

Conclusiones: El estándar de oro para la detección fenotípica de h-VISA es el análisis del perfil poblacional, sin embargo su realización es laboriosa. En este aislamiento el E-test GRD también fue útil para su detección.

MI 042

0109 - CIRCULACIÓN DE *KLEBSIELLA SPP.* MULTIRRESISTENTE EN UN SANATORIO PRIVADO DE LA CIUDAD DE RESISTENCIA, CHACO

SCHMIDBERGER, Marcelo[1] | **LOSCH, Silvina Liliana** [2] | MARÍN, Héctor Marcelo[2]

SANATORIO SAGRADA FAMILIA [1]; INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [2]

Introducción y Objetivos: El género *KLEBSIELLA SPP.* presenta amplia distribución en la naturaleza, siendo importante en infecciones nosocomiales, donde tienden a causar brotes. La colonización puede dar lugar a infecciones invasivas y aumenta proporcionalmente con el tiempo de internación. Poseen resistencia a antibióticos betalactámicos a través de la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Según red WHONET – Argentina, *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* está tercera en frecuencia después de *ESCHERICHIA COLI* y *STAPYHLOCOCCUS AUREUS*, incluso al considerar sólo aislamientos de salas de terapia intensiva. Por lo tanto es importante realizar su detección en la microbiota de cada institución de salud, debido a su morbimortalidad. Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar presencia de *KLEBSIELLA SPP.* en pacientes de un sanatorio privado, susceptibilidad antibiótica y su relación con aspectos clínico-epidemiológicos.

Materiales y Métodos: Durante el periodo 2015-2017 se analizaron 1233 muestras de diversas procedencias, de pacientes con síndromes infecciosos, internados en un sanatorio privado de la ciudad de Resistencia, Chaco. La detección de la bacteria se realizó por siembra en agar sangre o Levine. La identificación incluyó las pruebas de Catalasa, TSI, SIM, hidrólisis de la úrea, utilización de citrato y descarboxilación de lisina. La sensibilidad se determinó por difusión en agar con discos comerciales. Se adoptaron criterios del National Committee for Clinical Laboratory Standards. La elección de antibióticos a testear se realizó siguiendo la recomendación de la Red WHONET –Argentina. La detección de Betalactamasas de Expectro Extendido se realizó por el método de aproximación de discos.

Resultados: Se detectó *KLEBSIELLA* en 5.6% de las muestras, coincidiendo con datos de WHONET- Argentina (7,5%) para casos de infecciones nosocomiales. Es equivalente a la casuística en España (10%), según informe ENVIN-HELICS. Considerando el tipo de muestra se encontró 3.90 % en urocultivos, 1.23% en esputos, 0.56% en muestras varias, 0.33% en heridas quirúrgicas. 84% de las *KLEBSIELLAS* fueron multirresistentes. Esto condice con otros trabajos epidemiológicos (78%), sin discriminación del tipo de muestras. En cuanto a susceptibilidad antimicrobiana, 100 % de los aislamientos fue resistente a Amoxicilina /Ac. Clavulánico y 80 %

a Cefotaxima, Ceftazidima y Ciprofloxacina. En cambio 98,5% fue sensible a Imipenem, Amikacina y Piperacilina/Tazobactam. Esto es comparable a la resistencia hallada a nivel mundial (45-80%).

Conclusiones: El presente estudio concluye que imipenem, pipercilina/tazobactam y amikacina serían antibióticos de elección para tratamiento de infecciones por *KLEBSIELLA* multirresistente. Existe circulación de *KLEBSIELLA SPP.* en la institución analizada, por lo cual debería identificarse y establece la sensibilidad antibiótica.

MI 043

0134 - SEPSIS NEONATAL POR *CAMPYLOBACTER FETUS SUBSP FETUS*

GENESONI, Graciela | BUCHACRA, Carim | TAICHURE, Eliana | MARTINEZ, Federico | GENI, Bruni

1-SECTOR DE MICROBIOLOGIA.SERVICIO DE LABORATORIO. HOSPITAL PERRUPATO SAN MARTIN MENDOZA. ARGENTINA 2-SERVICIO DE NEONATOLOGÍA HOSPITAL PERRUPATO SAN MARTIN MENDOZA. ARGENTINA 3-SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA HOSPITAL DEL CARMEN GODOY CRUZ MENDOZA. ARGENTINA

Introducción: Los principales cuadros causados por *Campylobacter* sp. son gastroenteritis y bacteriemia. No obstante, esto último se presenta con menor frecuencia y es causado primordialmente por el *Campylobacter* fetus. La fuente de infección no es bien conocida, pero hay evidencias de que puede ser por vía digestiva a través del agua, leche u otros alimentos contaminados El principal reservorio son los animales domésticos y diversas aves de corral los cuales pueden ser fuentes de contaminación para el hombre.

Caso Clínico: Paciente que nace de cesárea por posición podálica, sexo femenino, con 38 semanas de gestación. Peso al nacer: 3,520 kg. Ingresa al Servicio de Neonatología, por presentar un Apgar de 6–7 (deprimido leve) y dificultad respiratoria. Al tercer día de vida se observa distensión abdominal y mal estado general. Se solicitan estudios de Laboratorio, Rayos X de tórax, y Hemocultivos. El Hemograma de ingreso presenta leucocitosis con neutrofilia con presencia de granulaciones tóxicas. Proteína C Reactiva: positiva. En la Rx de tórax se observa imagen de neumonía apical derecha, debido a la mala evolución clínica, el paciente requiere de asistencia respiratoria mecánica. Comienza con un tratamiento antibiótico, en forma empírica con Ampicilina –Gentamicina de acuerdo a los mg/kg/día, al tercer día se le agrega Metronidazol, debido a la distensión abdominal. Los Hemocultivos fueron negativos por aerobiosis. En la coloración directa de Gram, se observan, bacilos Gram negativos curvos tipo espiralados, por lo que se procede, a cultivar en microaerofilia, desarrollando, a las 24 hs, colonias sospechosas para *Campylobacter*. Se realizan pruebas bioquímicas, tipificación y antibiogramas correspondientes. Se identifica en forma manual y automatizada. Resultando el cultivo positivo para C. fetus. Se confirma mediante la Técnica de MALDITOF (desorción/ionización mediante láser asistida por Matriz). Se solicita Ecografía Cerebral por el antecedente de hipoxia y deprimido leve, informando, múltiples formas quísticas, confluentes entre sí. Se le realiza Tomografía Axial Computada cerebral, confirmando las imágenes quísticas con líquido en ambos hemisferios cerebrales, que abarca región temporo parietal y frontal derecho. Una vez confirmado el aislamiento se le agrega Meropenem por 28 días. El paciente evolucionó favorablemente, luego de 10 días de tratamiento. Debido a las imágenes quísticas observadas por ecografía cerebral y por los antecedentes maternos de serología positiva para toxoplasmosis, se solicitan estudios serológicos al recién nacido, descartando la posibilidad de que los mismos sean producidos por este parásito y por su imagen ecográfica. La paciente actualmente tiene tres años, presenta daño neurológico grave e irreversible con retraso psicomotriz y convulsiones a febriles, con deterioro progresivo.

Conclusiones: Conclusiones: Se desconoce la incidencia real de las infecciones causadas por *Campylobacter* fetus porque no es una patología de notificación obligatoria y porque su aislamiento es difícil, ya que requiere de condiciones de cultivo especiales. Sin embargo, estas dificultades pueden solventarse al usar sistemas automatizados para diagnósticos tempranos.

MI 044

0139 - PRIMER AISLAMIENTO DE *K. PNEUMONIAE* (KPN) PRODUCTORA DE CARBAPENEMASA OXA-163 EN SALA NEONATOLOGÍA. IMPORTANCIA DE LA DETECCIÓN TEMPRANA EN EL LABORATORIO

MARÍ, Raquel [1] | GRANADOS, Graciela[1] | BALLERINI, Viviana Alicia[2] | HOURQUESCOS, María Del Carmen[1] | MARTINICH, Carina[1] | ROMERO, María Mercedes[1] | ACARDI, Horacio[1] | VALLES, Julieta[1] | FUNES, Paula[1] | BETLER, Caren[1] | DUTTO, Magdalena[1] | ANCHART, Eduardo[3]

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CEMAR. DIRECCIÓN BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO. [1]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA HOSP. CARRASCO. DIRECCIÓN DE BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO [2]; DIRECCIÓN BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO [3]

Introducción: La resistencia emergente a carbapenemes (CP) es una preocupación en la salud pública, especialmente cuando involucra carbapenemasas que se transmiten horizontalmente. Las carbapenemasas de tipo OXA-48 incluyen una familia creciente de serinoenzimas, siendo OXA 48 el alelo fundador globalmente más difundido. En Argentina, la variante más difundida es OXA-163. A diferencia de OXA-48, esta variante es capaz

de hidrolizar eficientemente cefalosporinas de 3° y 4° generación y monobactames, pero presenta baja actividad hidrolítica sobre CP, al menos en los ensayos in vitro, incluso pudiendo presentar CIMs/halos en la categoría de sensible del CLSI, especialmente para Imipenem (IMP). Ertapenem (ERT) es el carbapenem que detecta mejor los bajos niveles de resistencia a esta familia de drogas.

Caso Clínico: Paciente internado por prematurez extrema en la sala de neonatología de un centro asistencial de Rosario. Durante su hospitalización de más de 40 días presenta diversos cuadros de infección nosocomial con sospecha de sepsis neonatal. A partir de un minibal se aísla Kpn, identificación realizada por MALDI-TOFF. El estudio de sensibilidad fue realizado con el equipo automatizado BD Phoenix y discos de difusión. Los valores de CIM y diámetros de difusión fueron respectivamente: (IMP) 1 ug/ml-26mm, Meropenem (MER) 1ug/ml-19mm, Piperacilina/tazobactam (TAZ) >64 ug/ml- 6mm, y a ERT>1 ug/ml - 17mm. El test de Hodge modificado (THM) con IMP-MER fue positivo. No se detectó sinergia entre EDTA, ácido fenilborónico, cloxacilina e IMP y MER. Se observó sinergia Ceftazidima (CAZ)-IMP. El aislamiento resultó ser una Kpn multiresistente probable productora de carbapenemasa (CPM). Se alerta al Servicio de Neonatología a fin de que se tomen las medidas correspondientes de aislamiento del paciente. Los resultados moleculares fueron los siguientes: PCR con cebadores específicos para KPC negativo, para CPM tipo OXA grupo 48: positivo. Se procedió a la purificación y posterior secuenciación del producto de PCR obtenido con cebadores específicos para OXA 48. La oxacilinasa producida por la bacteria en cuestión es una OXA-163. Esta enzima corresponde al grupo de homología OXA-48.

Conclusiones: La resistencia a CP en enterobacterias es cada vez más frecuente. Un halo de difusión a ERTA <= 21mm sumado a TAZ <=15 mm, permitiría sospechar la presencia de serinocarbapenemas, principalmente las del tipo OXA- 48-like o eventualmente otras CPM que fenotípicamente sean sensibles a IMP y MER. Asimismo es posible observar sinergia IMP-CAZ. Es fundamental la detección temprana de CPM en el laboratorio para adecuar el tratamiento antibiótico, realizar el inmediato aislamiento del paciente y cumplir con estrictas medidas de barrera para evitar la diseminación de la CPM. Este paciente fue definido como caso índice que derivó en un brote en las sala de Neonatología del centro asistencial.

MI 045

0154 - BROTE A *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORA DE CARBAPENEMASA OXA GRUPO 48 EN UNA SALA DE NEONATOLOGÍA DE UNA INSTITUCIÓN PÚBLICA DE LA CIUDAD DE ROSARIO

MARTINICH, Carina [1] | VALLES, Julieta[1] | BORGO, Monica[1] | MARI, Raquel[1] | AMIGOT, Susana[1] | ELIAS, Marta[1] | ANCHART, Eduardo[2] | PUIG, Gabriela[3] | BALLERINI, Viviana Alicia[4] | BENEGAS, Liliana[5] | DEFFES, Graciela[6] | DIAZ, Maria Susana Del Lujan[1]

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CEMAR. DIRECCIÓN BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO. [1]; DIRECCIÓN BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO [2]; JEFA UCIN MATERNIDAD MARTIN, SEC SALUD PUBLICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO [3]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA HOSP. CARRASCO. DIRECCIÓN DE BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO [4]; SERVICIO DE INFECTOLOGIA. CEMAR. SECRETARIA DE SALUD PUBLICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO [5]; CONTROL DE INFECCIONES. CEMAR. SEC DE SALUD PUBLICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO [6]

Introducción: Los carbapenemes (cb) son última opción de tratamiento en los brotes a *Klebsiella pneumoniae* (Kp) productora de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE). La resistencia a cb en Kp podría deberse a carbapenemasas (CP), que incluyen metaloenzimas así como KPC y OXA grupo 48 (OXA g48). Las CP OXA-48 hidrolizan cb, pero no así cefalosporinas de espectro extendido. No son inhibidas por ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam. Se identificaron 11 variantes de OXA-48, una de estas es OXA-163, aislada en Argentina en 2008, la cual hidroliza cefalosporinas de espectro extendido, pero débilmente cb. Es parcialmente inhibida por ácido clavulánico e inactivada por tazobactam. Esto hace difícil su detección en el laboratorio y podría diseminarse sin ser reconocida como CP. En este trabajo se describe un brote a Kp productora de CP OXA g48, en una sala de neonatología que involucró 3 pacientes.

Caso Clínico: Paciente 1y 2, neonatos nacidos pre-término, con comorbilidades acompañantes (cirugía y sepsis intrahospitalaria previas). Al momento de la detección llevaban más de 40 días internados. Paciente 3: Neonato nacido a término con diagnóstico prenatal de polihidroamnios severo y comorbilidades asociadas. Se rescató Kp a los 9 días de internación. Posteriormente, se aisló *Escherichia coli* (Eco) y *Enterobacter cloacae* (Ecl) con el mismo perfil de resistencia. Se identificaron 11 aislamientos bacterianos (9 Kp, 1 Eco y 1 Ecl) por espectrometría de masa, provenientes de materiales clínicos y de screening ambiental. El estudio de sensibilidad se realizó por el sistema automatizado VITEK 2C y por difusión con discos de Ertapenem (ERT) y Piperacilina/tazobactam (TAZ). Se evaluó la sinergia entre Imipenem (IMP) y Ceftacidima (CAZ). Se realizó el Test de Hodge modificado (THT). Se estudió la portación de genes bla_{OXA} g48 y bla_{KPC}. Se analizó la relación clonal entre los aislamientos por PCR con oligonucleótidos degenerados (OD PCR).

Conclusiones: Kp, Eco y Ecl fueron resistentes a ERT y TAZ, siendo sensibles a Meropenem e IMP. THT fue positivo. Se observó sinergia IMP-CAZ en todos los aislamientos. Estos resultados orientaron hacia una probable CP del tipo OXA. La PCR para OXA g48 fue positiva y negativa para KPC. El análisis clonal entre los aislamientos de Kp arrojó como resultado un clon único. Ante esta situación, se investigó la probable fuente intrahospitalaria de Kp productora de OXA g48 y se reforzaron las medidas de prevención de infecciones

intrahospitalarias en dicha sala. Se recuperó Kp OXA g48 de muestras ambientales asociadas a los pacientes 1 y 3. Se secuenció el primer aislamiento de Kp OXA g48, la cual resultó OXA-163. Las medidas adoptadas para controlar el brote fueron eficaces. El origen se localizó en dicha sala y su diseminación se relacionó con la asistencia sanitaria. Es necesario estar alerta a los marcadores que indican la probable presencia de OXA g48. Las herramientas moleculares permitieron fortalecer las medidas de vigilancia adoptadas.

MI 046

0160 - ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LAS TÉCNICAS DE CULTIVO Y DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA PARA LA DETECCIÒN DE LOS VIROTIPOS DE *ESCHERICHIA COLI* DIARROGÉNICAS EN MUESTRAS DE MATERIA FECAL PEDIÁTRICAS

MARZI, Sabrina Anabel [1] | CASABONNE, Cecilia[1] | AQUILI, Virginia[1] | CAPRILE, Luis[2] | GONZÁLEZ, Agustina[3]

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO [1]; HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO. [2]; FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNR / HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO [3]

Introducción y Objetivos: La enfermedad diarreica aguda (EDA) es un problema de salud pública mundial, especialmente en los países en vía de desarrollo y es una de las causas de mortalidad en niños menores cinco años. Entre las bacterias asociadas a EDA se encuentran los patotipos de las *Escherichia coli* (*E. coli*) diarrogénicas (DEC), responsables del 30 a 40% de los episodios de EDA en países en vías de desarrollo. Según su patogénesis y las características epidemiológicas, este grupo de bacterias se divide en seis patotipos: *E. coli* enteropatógena (EPEC), enterohemorrágica (EHEC), enterotoxigénica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregativa (EAEC) y difusamente adherente (DAEC). El diagnóstico de estos patógenos se puede realizar por serología, cultivo celular, ELISA o mediante la detección de genes de virulencia por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El objetivo fué comparar la técnica tradicional de cultivo con la técnica de PCR para la detección de los distintos virotipos de DEC.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 73 muestras de materia fecal de niños menores de 5 años que ingresaron al servicio de Bacteriología de un Hospital de Rosario desde mayo 2018 a marzo 2019. Las muestras fueron procesadas por la técnica tradicional de cultivo seguida de la identificación por pruebas bioquímicas y aglutinación con antisuero nonavalente (BioRad) para EPEC (colonias fermentadoras de sorbitol) y antisuero monovalente O157 (colonias no fermentadoras del sorbitol). Por otro lado, se estudiaron los genes ipaH, eae, eag, lt/st, stx1/stx2 mediante la técnica de PCR empleando cebadores específicos.

Resultados: Por el método tradicional de cultivo se obtuvo un 17,8% de aislamientos de EPEC y un 1,4% de *E. coli* O157. Por otro lado, al aplicar la metodología de PCR para el estudio de los virotipos de DEC, se detectó en un 2,7% el gen eae asociado a EPEC, en un 10,9% el gen eag asociado a EAEC, en un 1,4% el gen stx asociado a STEC y, finalmente, en un 1,4% los genes st y lt asociados al virotipo ETEC. No se detectó el gen ipaH asociado al virotipo EIEC. En el 83,6% de las muestras analizadas no se detectaron los genes estudiados pero si se aisló por la técnica tradicional de cultivo un 4,1% de *Campylobacter* jejuni, 5,5% de Shigella flexneri y 4,1% de Shigella sonnei.

Conclusiones: Resulta necesaria la implementación de técnicas de biología molecular para obtener una correcta identificación de las DEC lo que aporta datos epidemiológicos reales de las EDA. De acuerdo a los resultados obtenidos, no se aconseja el empleo de aglutinación con antisueros para EPEC dado su elevado porcentaje de falsos positivos (93% en este estudio). El gran reto en el estudio de las DEC, es poder contar con métodos diagnósticos de baja complejidad, rápidos, de bajo costo y de fácil acceso para todos los laboratorios que contribuyen a la epidemiología de las EDA.

MI 047

0168 - RASGOS GENETICOS Y FENOTIPICOS DE DOS AISLAMIENTOS CLINICOS DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* PERTENECIENTES A DOS ST CON DISTRIBUCION DIFERENTE (ST25 Y ST172)

MONTAÑA, Sabrina [1] | FERNANDEZ, Jennifer[2] | TRAGLIA, German[3] | SUCARI, Adriana[4] | PENINI, Magdalena[3] | CENTRON, Daniela[5] | MELANO, Roberto[6] | RAMIREZ, Maria Soledad[7]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA [1]; DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCE, CALIFORNIA STATE UNIVERSITY FULLERTON [2]; LAB. DE BACTERIOLOGÍA CLÍNICA, DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA, HOSP. CLINICAS JOSE DE SAN MARTIN [3]; UNIDAD MICROBIOLOGÍA, STAMBOULIAN LABORATORIO [4]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA [5]; PUBLIC HEALTH ONTARIO LABORATORIES, TORONTO [6]; DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCE, CALIFORNIA STATE UNIVERSITY FULLERTON [7]

Introducción y Objetivos: *Acinetobacter baumannii* es considerado un exitoso patógeno nosocomial debido a su capacidad intrínseca de persistir en el ambiente hospitalario y adquirir determinantes de resistencia antibiótica, encontrándose dentro de los microorganismos mayormente aislados en las unidades de cuidados

intensivos en nuestro país. En el presente trabajo decidimos llevar a cabo la secuenciación genómica de dos cepas de *A. baumannii* (Ab42, Ab376) que exhiben rasgos particulares.

Materiales y Métodos: Ab42 y Ab376 fueron recuperados de un aspirado endotraqueal y de un catéter respectivamente. La secuenciación del genoma completo se realizó mediante Illumina MiSeq-I y su posterior ensamblado mediante SPAdes. Los marcos de lectura abiertos fueron predichos por RAST y confirmados por BLAST. ARG-ANNOT, CARD-RGI, ISfinder y PHAST, se utilizaron para analizar ambos genomas. Se realizaron ensayos de trasformación y depredador-presa, para evaluar en Ab42 la capacidad de adquirir ADN exógeno y eliminar a otras bacterias competidoras

Resultados: Como resultado del análisis de ambos genomas, se observó que Ab42 pertenece al ST172, un ST poco común que se informó solo en otros 4 aislamientos recuperados de Argentina y China, mientras que Ab376 pertenece a ST25, un ST ampliamente distribuido en nuestra región. Así mismo, en dicho análisis se halló la presencia únicamente de 2 genes de resistencia a los ß-lactámicos en Ab42, mientras que en Ab376 se hallaron 3 genes de resistencia a ß-lactámicos, 4 a aminoglucósidos, 1 gen de resistencia a tetraciclinas (*tet*(B)) y 1 copia del gen *sul2* que otorga resistencia a sulfonamidas. En ambos genomas se detectaron los genes codificantes para las bombas de eflujo *AdeIJK*, *AdeFGH* y *AdeABC*, y sus respectivos genes reguladores *adeN*, *adeL* y *adeSR*. También encontramos la presencia de fagos intactos y curiosamente, no se detectaron secuencias de inserción en Ab42, mientras que 17 fueron detectadas en Ab376. En este último, además se encontró una isla tipo AbaR-like presente en un plásmido. En cuanto Ab42 mostró no solo la capacidad para eliminar a *Klebsiella pneumoniae* (VA360), sino también de transformarse con el ADNg de *A. schindleri* (As190), *A. junii* (Aj23910), *K. pneumoniae* (VA360 and Kb153) y *Escherichia coli* (Ec7499) con una frecuencia de transformación de 3.69×10^{-7}, 1.38×10^{-6}, 1.22×10^{-6}, 1.42×10^{-6} y 3.25×10^{-7}, respectivamente. Los ensayos de susceptibilidad de las células transformantes mostraron cambios en los perfiles de susceptibilidad a los antibióticos.

Conclusiones: El presente trabajo muestra el análisis genómico de dos cepas de *A. baumannii* que pertenecen a dos ST diferentes, uno poco común y otro ampliamente distribuido en nuestra región. Dichos hallazgos nos permiten caracterizar un ST antes no caracterizado (ST172) y aportar mayor caracterización a un ST ampliamente estudiado (ST25).

MI 048

0176 - INHALACION DE COCAINA: ¿PROBABLE PUERTA DE ENTRADA DE *NEISSERIA MENINGITIDIS* EN PACIENTE CON MENINGOCCEMIA SIN MENINGITIS?

MORILLAS, Analia Mariel [1] | VINANTE, Monica Alejandra[1] | MUSSIO, Maira Magalí[1] | MARTÍNEZ, María Inés[1] | CARRION, Natalia[2] | SOLOAGA, Rolando[2] | VICECONTE, Romina[1] | TORRES, Cecilia[1]

SANATORIO DR. JULIO MENDEZ. OBRA SOCIAL DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES [1]; HOSPITAL NAVAL CIRUJANO MAYOR DR. PEDRO MALLO [2]

Introducción: *Neisseria meningitidis*, agente etiológico de enfermedad meningocóccica, es un diplococo Gram negativo encapsulado. El tracto nasofaríngeo humano es el único reservorio conocido y esta condición es generalmente asintomática. Se presenta un caso clínico con varios objetivos. Evaluar un caso no habitual de meningococcemia sin meningitis, poner foco en el diálogo médico-microbiólogo para ajustar tratamientos empíricos y disminuir el tiempo de internación, revisar y revalorar las normas de bioseguridad, vacunación y profilaxis.

Caso Clínico: Paciente de sexo femenino de 53 años de edad, ingresa por fiebre de 24 hs de evolución y adenopatías cervicales dolorosas. Buen estado general, sin signos meníngeos ni lesiones cutáneas, fauces normales. Docente de nivel inicial, con antecedentes de tabaquismo, consumo de cocaína vía inhalatoria, y alergia mayor a penicilina. Se interna e inicia tratamiento antibiótico con ciprofloxacina y clindamicina. Laboratorio con recuento glóbulos blancos 10000/µL; IgG toxoplasma, IgM CMV, HIV y VDRL negativos; IgG CMV e IgG VCA positivos. Se toma juego de dos hemocultivos (sistema de detección Bact-Alert®, bioMérieux) y positivizan ambos con diplococos gram variables. Desarrollan colonias de aspecto sugestivo de *Neisseria* spp. o *Haemophillus* spp con pruebas de catalasa y oxidasa positivas. Se rota a meropenem. El aislamiento se identifica por Vitek® 2 Compact, bioMérieux y MALDI-TOF (Htal. Naval) como *Neisseria meningitidis*. Sensible a penicilina, ceftriaxona, meropenem y ciprofloxacina. El cultivo de líquido cefalorraquídeo resulta negativo, con físico-químico normal y otros exámenes complementarios normales. Se da de alta con ciprofloxacina y completa tratamiento con buena evolución.

Conclusiones: La inhalación de cocaína puede provocar isquemia y necrosis de la mucosa nasal por lo que la consideramos como posible factor de riesgo para meningococcemia en portadores sanos. La meningococcemia sin meningitis es poco habitual y presenta graves secuelas si no se instaura un tratamiento adecuado. El aislamiento reforzó conceptos de bioseguridad y riesgo biológico. Se reevaluó la actualización de vacunas y profilaxis antibiótica del personal de laboratorio en exposición a *N. meningitidis*. Valoramos al diálogo médico-bioquímico como una herramienta para evitar accidentes de trabajo e implementar tratamientos ajustados. El rápido informe del Gram de hemocultivos y la sospecha de este microorganismo dirigió la terapia empírica y

evitó complicaciones. El contacto fluído entre el equipo de salud, protege a bioquímicos y técnicos de laboratorio y tiene alto impacto en la salud y pronta recuperación de los pacientes.

MI 049

0210 - BACTERIEMIA ASOCIADA A CATÉTER EN PACIENTE PEDIÁTRICO POR *ARTHROBACTER SP.*

TORRES, Silvina Marcela | **MERILES, Juan Marcelo** | SCARANO, Silvia Teresa | DELGADO, Micaela | VISCARDI, Ignacio Guillermo

HOSPITAL MILITAR CENTRAL - CIRUJANO MAYOR DR. COSME ARGERICH

Introducción: Los bacilos Gram positivos corineformes están ampliamente distribuidos en el ambiente y forman parte de la microbiota humana. Son considerados, generalmente, patógenos oportunistas. Las bacterias del género *Arthrobacter* son bacilos Gram positivos de morfología irregular, de crecimiento aeróbico, no esporulados y que no presentan ácido resistencia. Aislados en cultivos de suelo, son pocos los reportes encontrados en los que se les asigne relevancia clínica. Presentamos un caso de infección asociada a catéter por *Arthrobacter sp.* en una paciente de pediatría.

Caso Clínico: Una paciente de 15 meses con síndrome nefrótico congénito diagnosticado al año de vida, permanece internada para evaluación multidisciplinaria. A los dos meses de la colocación del catéter implantable presenta registros febriles asociados a descompensación hemodinámica. Se realiza urocultivo, dos hemocultivos y un retrocultivo en botellas de un sistema automatizado e inicia empíricamente tratamiento con piperacilina-tazobactam y vancomicina, adecuado a la epidemiología local. El retrocultivo fue positivo a las 12 horas y los hemocultivos después de las 24 horas de incubación. En la coloración de Gram de las tres muestras se observan bacilos Gram positivos corineformes. A las 24 horas de incubación a 37°C desarrollan en agar sangre de carnero colonias pequeñas, blanco-grisáceas. Se realizan pruebas de orientación: catalasa (+), lipofilismo (-), oxidasa (+), motilidad (-). Se informa al equipo médico tratante y decide remoción y cultivo del catéter implantable con el reservorio, aislándose un bacilo Gram positivo corineforme con las mismas características fenotípicas y de sensibilidad. Las pruebas de sensibilidad se realizaron por método epsilométrico, con los siguientes valores de CIM: vancomicina: 1.00 ug/ml; penicilina: 0.75 ug/ml; gentamicina: 1.50 ug/ml; ceftriaxona: >64 ug/ml; rifampicina: >32 ug/ml y meropenem: 0.75 ug/ml. Ante la imposibilidad de completar la tipificación en nuestro laboratorio se deriva la cepa, siendo identificada por espectrometría de masas como *Arthrobacter woluwensis* con un score de 2,576. La identificación a nivel especie está sujeta a confirmación por método molecular. Con los resultados microbiológicos obtenidos se asume bacteriemia asociada a catéter de larga permanencia. La paciente completó su tratamiento con vancomicina por 14 días desde retirado el mismo, con hemocultivos de control negativos a las 48 horas de instaurado el tratamiento antibiótico. La niña evolucionó favorablemente y fue dada de alta para continuar el seguimiento nefrológico en forma ambulatoria.

Conclusiones: Hemos encontrado escasa bibliografía acerca de infecciones por *Arthrobacter sp.*, todas en pacientes adultos. La rareza de su presentación como causal de infección podría explicarse por su baja patogenicidad y tal vez a un subdiagnóstico dada la dificultad para ser tipificado por métodos convencionales. En este caso *Arthrobacter sp.* fue considerado causante de bacteriemia asociada a catéter, con evolución satisfactoria de la paciente gracias al tratamiento guiado por tipificación y sensibilidad del microorganismo.

MI 050

0217 - DISEMINACIÓN VÍA HEMATÓGENA DE *NOCARDIA FARCINICA* A PARTIR DE UN FOCO PRIMARIO, EN UN PACIENTE INMUNOCOMPROMETIDO

FERAUDO, Georgina Alicia | PAZ, Verónica | RODRIGUEZ, Maria Alejandra | SCARANO, Silvia | PESCIO, Adriana | VICARIO, Silvia

SANATORIO DE LOS ARCOS

Introducción: *Nocardia spp.* suele causar enfermedad pulmonar a partir de la inhalación del microorganismo vehiculizado a través de partículas finas suspendidas en el aire, o bien de fragmentos miceliares presentes en el medio ambiente; con la posibilidad de invadir el organismo del huésped.(1,2,3)En el siguiente caso describiremos como *Nocardia farcinica* a partir de un foco inicial por el cual ingresó al organismo de una paciente inmunocomprometida, se diseminó logrando invadir múltiples órganos.

Caso Clínico: Paciente femenino de 70 años se presenta por cuadro de odinofagia y disfagia. Se la trató con penicilina vía oral, pero ante una mala evolución se derivó a otorrinolaringología. Una resonancia magnética nuclear (RMN) de cuello determinó presencia de un absceso faríngeo. En su historia clínica data antecedente de inmunocompromiso provocado por su tratamiento con esteroides y afatinib por padecer un adenocarcinoma de pulmón con metástasis en el sistema nervioso central y huesos; además de diabetes y esplenectomía de

necesidad. Se le realizo un drenaje quirúrgico del absceso faríngeo y el contenido purulento recolectado fue enviado a bacteriología para su cultivo. Se tomaron hemocultivos. Al examen físico presentaba en dorso subescapular derecho dos bultomas dolorosos a la palpación. Su neurólogo de cabecera evidenció en una RMN de control lesiones que refuerzan con contraste compatibles con abscesos cerebrales. Examen directo del material purulento: abundante reacción inflamatoria acompañada de bacilos gram positivos ramificados. El cultivo desarrolló a las 48 horas, observándose delicadas y pequeñas colonias color blancas y aspecto seco. La identificación se realizó por Maldi-TOF: *N. farcinica*. Conjuntamente positivizó el juego de hemocultivos, observándose en la tinción de gram bacilos gram positivos, parcialmente ácidos resistentes al realizarse las tinciones de Ziehl Neelsen y Kinyoun. El tratamiento empírico fue con linezolid y meropenem. Se solicitó una TAC de tórax, como parte del screening en este tipo de cuadros. Se evidenció lesión apical derecha cavitada con aire en su interior que podría corresponder a absceso pulmonar por *Nocardia spp.* El aislamiento resultó ser sensible a levofloxacina y trimetoprima-sulfametoxasol.[4]

Conclusiones: Logramos documentar el recorrido del microorganismo a través del torrente sanguíneo mediante su hallazgo en los hemocultivos tomados a la paciente; lo cual no es muy frecuente ya que la primer fase de la enfermedad, la invasión pulmonar, y la siguiente diseminación vía hematógena; pueden cursar asintomáticas o bien con síntomas difusos.(1,3) Referencias: 1-Clinical and LaboratoryFeatures of theNocardiaspp. Based on Current Molecular Taxonomy. Brown-Elliott,1 Brown,2 Conville,3 Wallace, Jr1. Clin Microbiol Rev. 2006 2-Disseminated Nocardia farcinica in an immunocompetent patient. H. Boamah, MD,a,P. Puranam, MD,a and R.M. Sandre, MDa,b. ELSEVIER ID CASES. 2016 3-Nocardia asteroides. Bellésa, Ferreruela. Seimc. 4-CLSI – Susceptibilitytesting of Mycobacteria, Nocardiae, and other aerobic Actinomycetes – Secondedition – Vol. 31 No 5.

MI 051

0220 - BACTERIEMIA A FOCO MENÍNGEO POR *SERRATIA LIQUEFACIENS*. CORRELACIÓN CLÍNICO-MICROBIOLÓGICA. A PROPÓSITO DE UN CASO

MIGUEL, Candela [1] | OTTAVIANO, Sergio[1] | CASTRO, Natalia[2] | CECCHINI, Laura[3] | PINO, Adriana[1] | CLUSA, Mónica[4]

LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA. CLINICA MONTE GRANDE [1]; SERVICIO DE PEDIATRIA. CLINICA MONTE GRANDE [2]; LABORATORIO. HOSPITAL ZONAL DE EZEIZA [3]; LABORATORIO. CLINICA MONTE GRANDE [4]

Introducción: *Serratia liquefaciens* es un bacilo Gram negativo (BGN) perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, cuyas localizaciones más importantes son tractos urinario y respiratorio de adultos y aparato digestivo en neonatos. El género *Serratia* está compuesto por diversas especies de las cuales la más comúnmente relacionada a patologías humanas es *Serratia marcescens*, especialmente en pacientes inmunocomprometidos y ocasionando, por lo general, brotes hospitalarios.

Caso Clínico: Se recibe a un paciente masculino de 14 años de edad, sin antecedentes de enfermedades graves cirugías previas ni inmunocompromisos que presenta cefalea y vómitos. Se realizan urocultivo, hemocultivos y punción lumbar (LCR). Ésta última presenta un examen fisicoquímico patológico, con lo cual por su edad se indica tratamiento con ceftriaxona. Los Hemocultivos fueron ingresados en sistema automatizado positivándose a las 16 y 18 horas de incubación. En los mismos se observaron BGN y se procedió a realizar pruebas bioquímicas manuales y antibiograma mediante el método de difusión. El LCR fue sembrado en medios sólidos y líquidos, aislándose a las 36 horas de incubación un BGN oxidasa negativo el cual se procede a identificar y evaluar sensibilidad antibiótica. Surgen en paralelo entonces la identificación presuntiva del BGN como *Serratia* posiblemente *Serratia plymuthica* resistente a Ampicilina, Cefalosporinas de 1ra y 2da generación, Sensibilidad Intermedia a Cefalosporinas de 3ra generación y Sensible a Ampicilina-Sulbactam, Carbapenemes, Aminoglucósidos, Trimetropima-Sulfametoxazol, Ciprofloxacina y Piperacilina-Tazobactam. Debido a la rareza del germen y del sitio del aislamiento, se decide derivarlo al Hospital Zonal de Ezeiza donde mediante métodos automatizados se obtiene mismos resultados de identificación y antibiograma. Teniendo en cuenta lo hallado y por la evolución tórpida del paciente, el Servicio de Pediatría decide rotar el tratamiento a Meropenem. A las 72 horas de tomadas las primeras muestras y ya con el nuevo tratamiento en curso se solicitan Hemocultivos y LCR de control, los cuales resultan negativos a 5 días de incubación. Por ser un microorganismo de muy baja frecuencia como patógeno humano y por considerarse un hallazgo dadas las características del paciente y de las muestras, se decide derivar el aislamiento al Servicio de Enterobacterias del Instituto INEI Malbran para su confirmación. En dicho instituto el aislamiento es identificado como *Serratia liquefaciens* por técnica de espectrometría de masa y pruebas bioquímicas.

Conclusiones: Si bien la identificación obtenida por método manual y automatizado resultó diferente a la lograda con espectrometría de masa, no deja esto de ser un hallazgo microbiológico teniendo en cuenta el microorganismo obtenido, las muestras en las que se obtuvo y el paciente en el cual desarrolló. Esto nos motivó a documentar el caso dada la nula cantidad de reportes. Agradecemos al Servicio de Enterobacterias del INEI Malbrán.

MI 052

0262 - OSTEOMIELITIS VERTEBRAL POR *SALMONELLA* INFANTIS

AVILÉS, Natalia [1] | FURIASSE, Daniela[1] | ORECCHINI, Alejandra[1] | PALACIO, Belén[2] | BERGALLO, Carlos[2] | LEDESMA, Elizabeth[1]

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA, SANATORIO ALLENDE [1]; SERVICIO DE INFECTOLOGÍA, SANATORIO ALLENDE [2]

Introducción: De las principales manifestaciones clínicas producidas por *Salmonella* sp, osteomielitis es una entidad rara que representa menos del 1 %. Ocurre en pacientes inmunocomprometidos o con enfermedad de base por diseminación hematógena a partir de un foco primario, comúnmente enteral. Describimos un caso de osteomielitis vertebral por *Salmonella* Infantis en paciente inmunocompetente.

Caso Clínico: Paciente masculino de 24 años con lumbalgia de 3 meses de evolución. Ingresa estable, normotenso, febril. En la Resonancia Magnética Nuclear se observó absceso que involucra al músculo psoas, disco intervertebral y cuerpos vertebrales. Se somete a toilette quirúrgico remitiendo disco y hueso para cultivo. Se realizaron coloraciones tintoriales correspondientes y se cultivaron en medios convencionales. Se inicia tratamiento empírico con Ciprofloxacina (CIP)/ Ceftriaxona. A las 24 h hubo desarrollo de bacilos gram negativos que fueron identificados por sistema Phoenix como *Salmonella* sp. productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEE), el cual resultó sensible a carbapenems, aminoglucósidos, piperacilina-tazobactam, Amoxicilina clavulánico(AMC), fosfomicina, azitromicina(AZI) y resistente a CIP, Trimetoprima sulfametoxazol. Se modifica esquema a Ertapenem (ERTA) 1 g /día. La cepa fue identificada como *Salmonella* Infantis productora de BLEE genotipo SHV de acuerdo a los resultados obtenidos por Instituto Carlos G. Malbrán. Evoluciona favorablemente, cumple 10 días de antibiótico endovenoso y se otorga alta sanatorial con AMC/AZI. A las 48 h regresa por fiebre persistente con escalofríos y lumbalgia. Se tomaron hemocultivos que resultaron negativos. Se estableció tratamiento con ERTA 1g/día por 48h y al continuar con fiebre se modificó a Meropenem/AZI. Continuó con esquema antibiótico endovenoso por 5 días, permaneciendo afebril y en buen estado general, se decidió alta sanatorial con AMC/AZI por 8 semanas hasta resolución completa del cuadro.

Conclusiones: La salmonelosis extraintestinal tiene baja incidencia, los casos de osteomielitis no superan el 1% y suelen ocurrir en pacientes inmunocomprometidos, siendo inusual en aquellos sin enfermedad subyacente. Se ha descrito que el 54% de los pacientes que sufrieron osteomielitis por *Salmonella*sp. tenían condiciones predisponentes, mientras que el 46% restante no exhibieron factores de inmunocompromiso al igual que el paciente descrito. Las cefalosporinas de amplio espectro y quinolonas son usadas para el tratamiento de este tipo de infecciones; no obstante a lo largo de los años han sido reportados aislamientos productores de BLEE con resistencia acompañante a CIP. Este hecho frecuente en todo el mundo, tal como ocurrió en este reporte sugirió el uso de otras alternativas antimicrobianas como carbapenems/AZI. Por ello se debe enfatizar en la importancia de tratamientos adecuados y prolongados para disminuir la posibilidad de complicaciones supurativas y/o recaídas.

MI 053

0322 - BACTERIEMIA POR *VIBRIO CHOLERAE* NO-O1/NO-O139 EN PACIENTE CON LITIASIS COLEDOCIANA DE UN HOSPITAL DE SANTA FE

GONZALEZ, Carolina [1] | GOMEZ COLUSSI, Andrea Florencia[2] | ARGARAÑA, María Fernanda[2]

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [1]; HOSPITAL J.B ITURRASPE [2]

Introducción: *Vibrio cholerae* es un bacilo gram negativo curvo, anaerobio facultativo, oxidasa positivo, móvil. En base al antígeno de superficie "O" se subdivide en serogrupos O1/O139, causantes de epidemias de cólera por su producción de toxinas promotoras de secreción intestinal; y no O1/O139. Los serogrupos no O1/O139 no presentan habitualmente los factores de virulencia asociados al cólera epidémico (enterotoxina CT y el factor de colonización TCP), pero pueden producir toxina termoestable NAG-ST y citolisinas, además, se ha descripto la presencia de un sistema de secreción de tipo III en algunas cepas. Las formas clínicas invasoras en estos serogrupos se presentan en pacientes con diversos grados de inmunocompromiso, siendo las fuentes de infección el agua y productos marinos contaminados. Su hallazgo en sangre se asocia a elevada mortalidad, y es el segundo sitio de aislamiento más frecuente después del líquido ascítico.

Caso Clínico: Se presenta el caso clínico de una paciente de 65 años, proveniente de un asentamiento de la Comunidad Mocoví, que consultó por un cuadro de dolor abdominal de 20 días de evolución, fiebre y vómitos. Presentó ictericia, coluria, con leucocitosis y aumento de transaminasas y fosfatasa alcalina . Se solicitaron cultivos de sangre. Se enviaron al laboratorio de microbiología muestras de hemocultivos (2 frascos) que fueron incubadas en equipo automatizado Bact-Alert, resultando positivas a las 7,5 horas. En la coloración de Gram se observó la presencia de bacilos gram negativos curvos en ambos frascos y se resembró en Agar Chocolate y Agar sangre. Se obtuvo desarrollo de colonias betahemolíticas, oxidasa positiva. El aislamiento se identificó como *V. cholerae*mediante el uso del sistema automatizado Vitek 2C (BioMerieux) y la realización de pruebas bioquímicas convencionales y resultó sensible a ampicilina, ciprofloxacina, nitrofurantoina, trimetoprima-sulfametoxazol. La cepa fue enviada a un centro de referencia que la clasificó como no-O1, no-O139. Se solicitó coprocultivo en el cual no desarrolló el microorganismo. El paciente recibió tratamiento con ciprofloxacina y metronidazol. Se diagnosticó como litiasis coledociana mediante colangiopancreatografía retrograda endoscópica.

Conclusiones: Se comunica caso de bacteriemia por *V. cholerae* no-O1 no-O139 en nuestro hospital. La rápida identificación de la bacteria fue útil para implementar la terapia antimicrobiana adecuada y evitar su diseminación. El hallazgo fue comunicado al Departamento de Epidemiología de la provincia de Santa Fe, que se encargó de identificar las características habitacionales y condiciones higiénico-sanitarias del lugar de residencia del paciente.

MI 054

0321 - DETECCIÓN DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* POR MÉTODOS MOLECULARES EN MUJERES AFILIADAS A UNA OBRA SOCIAL

HANKE, Silvina Elizabeth [1] | WOLFLE, Cyntia Paola[1] | SALVATIERRA, Karina Alejandra[1] | PARAFIENIUK, Sergio Ariel[1] | BENITEZ, Florencia[1] | WEGERT, Adriana[2] | QUINTANA, Karina Verónica[2] | JORDÁ, Graciela Beatriz[1]

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES, UNAM [1]; INSTITUTO DE PREVISIÓN SOCIAL DE MISIONES [2]

Introducción y Objetivos: *Chlamydia trachomatis* es considerada en la actualidad una de las causas más frecuentes de infecciones transmisibles sexualmente (ITS), asociada principalmente a infecciones oculares y genitales, cuyas complicaciones más graves incluyen la ceguera y la infertilidad. En las mujeres, se manifiestan como cervicitis y uretritis, aunque un número importante de ellas sólo cursan infecciones asintomáticas.

Materiales y Métodos: Las muestras endocervicales se tomaron durante el período comprendido entre el 1 de Enero y el 30 de Diciembre de 2018. La extracción de ADN se realizó en forma manual por métodos comerciales. Para la PCR se usó el protocolo de Mahoney y cols., utilizando los cebadores KL1 y KL2. Los datos fueron recopilados en una planilla Excel, y posteriormente se hizo el análisis estadístico con el programa SPSS versión 21.0.

Resultados: Se analizaron 1232 muestras cervicales de mujeres que acudieron al laboratorio de análisis clínicos del IPSM. En el momento del estudio, 170 pacientes cursaban un embarazo. El rango etario de las mismas estuvo comprendido entre los 14 y 59 años, con una media de 32 años (ds=9,39). De las 1232 pacientes estudiadas, 56 resultaron positivas para la infección por *C. trachomatis*, lo que hace una prevalencia de 4,6%. De éstas, 8 correspondieron al grupo de las embarazadas, detectándose una prevalencia de 4,7% en este grupo (8/170). El rango de edad de las pacientes positivas, estuvo comprendido entre 15 y 50 años, con una media de 27,9 años (ds=9,05). La mayor prevalencia se halló en el grupo de paciente de entre 14-24 años (44,64%), seguido del grupo de 24-34 años (30,36 %), en concordancia a lo reportado en la literatura. Del total de muestras clamidia positivas, 16 presentaron respuesta inflamatoria (RI) representando el 28,6% (16/56).

Conclusiones: La prevalencia obtenida en este estudio (4,6%) es ligeramente menor a estudios previos en la región. Esto podría deberse a que el grupo estudiado incluyó pacientes sintomáticas y asintomáticas y particularmente en nuestro laboratorio anteriormente se utilizaban técnicas de inmunocromatografía que tienen menor sensibilidad y especificidad. Se obtuvo una prevalencia en el grupo de las embarazadas de 4,7%. También inferior a otro estudio realizado anteriormente en la misma institución. De las pacientes clamidia positivo solamente presentaron RI el 28,6% de las mujeres, este dato también es menor al comparar con otros autores. Se destaca la importancia de realizar el diagnóstico con métodos de detección sensibles, como la biología molecular, para realizar el tratamiento de forma temprana, reducir el riesgo de diseminación de la enfermedad y por lo tanto evitar complicaciones más graves.

MI 055

0356 - *YERSINIA ENTEROCOLITICA*- REPORTE DE UN CASO DE DIARREA CON BACTERIEMIA

ESTERLIZZI, Richard Luis | GARCÌA, Miriam | ROSSIGNOL, Gustavo | GOMEZ, Margarita | MURA, Stella | PITTET, Claudio | PASCANER, Sara | BARRIOS, Cristian | JUANIZ, Andrea

HOSPITAL DE EMERGENCIAS DOCTOR CLEMENTE ALVAREZ

Introducción: El género *Yersinia* está compuesto por once especies, de las cuales tres son patógenas del hombre: *Yersinia pestis* (*Y.pestis*), *Yersinia enterocolitica* (*Y.enterocolitica*) y *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y.pseudotuberculosis*). Son bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, móviles a 25º C. *Y. enterocolitica* presenta más de 50 serotipos y 5 biotipos, sobrevive y se multiplica a bajas temperaturas: 4ºC. El reservorio son los animales domésticos (perros y gatos) y animales de granja para consumo humano siendo el cerdo la principal fuente de infección. La transmisión es fecal-oral por alimentos y aguas contaminadas con las heces y con menor frecuencia, por contacto con personas o animales infectados. Causa enterocolitis, ileítis, adenitis mesentérica (síndrome pseudoapendicular), bacteriemia, sepsis y abscesos extraintestinales. La enterocolitis es la forma clínica más frecuente y se caracteriza por fiebre, dolor abdominal y diarrea. La bacteriemia y sepsis se observan en los huéspedes inmunocomprometidos. .

Caso Clínico: . Ingresa a la guardia de un Hospital público de la ciudad de Rosario una paciente de 63 años, extabaquista, con prótesis de cadera por fractura previa, astenia de un mes de evolución, hiporexia, con pérdida de 15 kg de peso asociada a disfagia a sólidos. Consulta por un cuadro de diarrea acuosa de cinco días de evolución y dolor abdominal. El laboratorio presenta anemia, plaquetopenia y acidosis metabólica. Se observa esplenomegalia. Se solicita TAC de cráneo, tórax y abdomen (que se informan sin particularidades) y coprocultivo. Al segundo día de internación la paciente evoluciona con desorientación en tiempo y espacio, se torna hemodinámicamente inestable y con tendencia a la hipotermia e hipotensión. Es derivada a UTI donde se solicitan hemocultivos y se inicia tratamiento con ceftriaxona. La paciente evoluciona desfavorablemente con shock refractario y paro cardiorrespiratorio. En los hemocultivos (BactAlert, bioMérieux) desarrollan bacilos Gram negativos a las 24 hs de incubación, los que son identificados como *Y. enterocolítica*. La tipificación se realiza por técnica de espectrometría de masas desorción/ionización mediante láser asistida por Matriz (MALDI-TOF biotyper, Brucker Daltonics), y la sensibilidad antibiótica por sistema automatizado VITEK2 C. En la siembra inicial del coprocultivo no se aíslan colonias de Y. enterocolitica, recuperándolas de la siembra en medio Mac Conkey después de haber refrigerado la materia fecal en medio de Cary-Blair durante 3 días a 4ºC.

Conclusiones: Debe considerarse la posibilidad de bacteriemia con *Y. enterocolítica* en pacientes inmunocomprometido o con patología de base grave. Para aumentar la posibilidad de rescate de *Y. enterocolítica* en materia fecal, se sugiere incorporar la preincubación de la muestra de materia fecal a 4°C en un medio tamponado alcalino (por ejemplo Cary Blair) y nueva siembra en medio de Mac Conkey.

MI 056

0381- CLINDAMICINA COMO INDUCTOR DEL FENOTIPO MLSI EN *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

GONZALEZ GALLINI, Julieta | TORESANI, Inés | LIMANSKY, Adriana

CÁTEDRA DE BACTERIOLOGÍA, DPTO. MICROBIOLOGÍA, FACULTAD DE CS. BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS. UNR

Introducción y Objetivos: *Streptococcus agalactiae* (EGB) forma parte de la microbiota comensal del tracto gastrointestinal y por contigüidad coloniza de forma intermitente el área perineal y tracto genital. Aunque tradicionalmente la importancia de EGB como patógeno se ha limitado a infecciones relacionadas con la gestación y el puerperio, en los últimos años se ha observado un incremento de las infecciones por EGB en adultos, fuera del periodo perinatal, principalmente en ancianos y pacientes con enfermedades subyacentes o factores predisponentes. La patogenicidad de EGB a nivel vaginal no se reconoce de manera uniforme en la literatura; sin embargo, se ha observado que el organismo puede causar inflamación y secreción local. En recientes reportes se le adjudica su asociación con patologías genitales bajas, principalmente vaginitis. En general, el tratamiento de elección es penicilina/ampicilina y en pacientes alérgicos, eritromicina (eri) o clindamicina (cli) se constituyen en la opción alternativa. Es de uso frecuente en ginecología el tratamiento con la asociación gentamicina (gen)/ cli, en particular, este último es de práctico acceso por su disponibilidad en óvulos vaginales. La resistencia (R) a eri y cli ha ido en aumento en los últimos años. Los mecanismos de R a eri son: a- producción de metilasa modificadora del sitio blanco, codificada por genes *erm*, que conlleva la R a lincosamidas y streptograminas (MLS_B), siendo su expresión fenotípica constitutiva (MLSc) o inducible (MLSi), siendo el inductor eri y/o b- mecanismo de eflujo, codificado por *mef* (fenotipo M). Por otra parte, se ha descripto R a cli por inactivación enzimática, gen *lnu* (fenotipo L). De estos, el más ampliamente distribuido en EGB, es el MLS_B. Es nuestro interés reportar dos casos de vaginitis producidas por EGB que mostraron un fenotipo MLSi, donde cli fue el inductor.

Materiales y Métodos: Ambos EGB, fueron recuperados de vagina de mujeres no embarazadas, sexualmente activas, con vaginitis, una atendida en el Sanatorio de la Mujer y la otra en el Hospital Provincial del Centenario. Se estudió mediante método de difusión en agar la sensibilidad a gen (10µg y 120µg), levofloxacina (lev 5µg), eri 15µg y cli 2µg y los mecanismos de R MLS mediante Test de Doble Disco (TDD). Los genes de R, *erm* A, *erm* B y *lnu* B fueron analizados por ensayos de PCR y secuenciación, y la clonalidad mediante OD-PCR.

Resultados: El TDD permitió observar R a cli y sensibilidad a eri con achatamiento de su halo en las proximidades a cli en ambos EGB. Además fueron R a gen de ambas cargas y sensibles a lev. Los ensayos de PCR y secuenciación detectaron *erm* A y *erm* B en ambos aislamientos. En ningún caso se detectó *lnu*B. OD-PCR permitió observar que los dos EGB correspondían al mismo clon.

Conclusiones: El reporte de estos casos sugiere la existencia de un fenotipo MLSi, donde cli sería el inductor. Asimismo es interesante resaltar que ambos EGB presentan el mismo fenotipo y corresponden a un mismo clon, si bien sus orígenes no están epidemiológicamente relacionados.

MI 057

0383 - BACTEREMIA POR *NEISSERIA GONORRHOEAE*: INFECCION GONOCOCCICA DISEMINADA

RODRIGUEZ, Maria Alejandra | BELLO, Natalia | FERAUDO, Georgina Alicia | SCARANO, Silvia | PESCIO, Adriana | VICARIO, Silvia

SANATORIO DE LOS ARCOS

Introducción: *Neisseria gonorrhoeae* usualmente produce cuadros de cervicitis, uretritis y enfermedad inflamatoria pélvica. El 0.5-3% de las infecciones gonocóccicas no tratadas progresan a infección gonocóccica diseminada (IGD) que es más frecuente en mujeres que hombres(4:1), favorecido principalmente porque en la mujer tienden a ser asintomáticas . Cuando la diseminación es por vía hematogena o IGD clásica se manifiesta como una combinación de dermatitis,tenosinovitis y poliartralgia migratoria o como artritis purulenta sin lesiones en piel. . *N. gonorrhoeae* es raramente aislada en sangre debido a que la bacteremia es transitoria y asintomática y solo resulta sintomático cuando el gonococo llega a su órgano final de destino . Se presenta un caso clínico IGD con aislamiento microbiológico en hemocultivos.

Caso Clínico: Mujer de 38 años, con antecedentes de 2 cesáreas, no refiere viajes, ni contacto con animales. Al examen físico presenta dolor articular a la movilización y no a la palpación muscular y registros febriles de 72 hs de evolución. Se indica tratamiento con AINES. Por continuar con los síntomas se realizan: Radiografía de tórax sin particularidades. Hemograma , hepatograma y proteinograma electroforético dentro de parámetros normales. Serologías (Dengue,CMV,EBV, *Chlamydia trachomatis* , *Mycoplasma hominis*) y Perfil reumatológico se informan negativos. Se solicitan también hemocultivos por dos. Es evaluada por el servicio de reumatología y se interpreta como enfermedad reumatológica por lo cual inicia tratamiento con Deltisona 8 mg vía oral. Luego de 41 hs de incubación 1 de 2 frascos de hemocutlivos Bactec BD resulta positivo observándose en la coloración de Gram Cocos Gram Negativos. Se realiza PCR multiplex de sepsis FilmArray BCI® resultando negativo . Se repica en Agar chocolate(Ach) y Thayer Martin(TM) incubándose por 48hs a 35°C en microaerofilia, sin obtener desarrollo. Se agrega siembra en anaerobiosis y medio líquido Tioglicolato ,obteniéndose turbidez luego de 4 días de incubación , por lo que se repica en Ach y TM desarrollando Cocos Gram Negativos oxidasa positivo. La identificación se obtuvo por espectrometría de masas Maldi-Tof : *Neisseria gonorrhoeae*. Se realizó sensibilidad a Penicilina(CIM: 0.38 mg/l),Ceftriaxona(CIM :<0.002 mg/l) y sensibilidad por difusión a Ciprofloxacina 5ug/ml(32 mm) .Con estos resultados se le indica a la paciente una dosis IM de Ceftriaxone y completar 5 días de tratamiento antibiótico vía oral con Cefixime 400 mg.

Conclusiones: Se pudo probar la diseminación hematógena ya que se aisló *N. gonorrhoeae* en 1:2 frascos de hemocultivos. El subcultivo en medio Tioglicolato, permitió su recuperación pudiendo de esta manera llegar a la tipificación del agente etiológico y realizar así un diagnóstico diferencial. La IGD debe tenerse en cuenta en los jóvenes sexualmente activos que tienen solo una o dos características de la tríada clásica. El manejo oportuno y el tratamiento adecuado de la IGD es muy importante para evitar complicaciones y morbilidad.

MI 058
0359 - ARTRITIS INFECCIOSA POR *NEISSERIA GONORRHOEAE*

ASATO, Soledad[1] | **CAPPELLINI, Natalia** [1] | MEDEOT, Romina[1] | ROMERO, Federico[2] | GOVEDIC, Francisco[2] | BERGALLO, Carlos[2]

SERVICIO DE BACTERIOLOGÍA, SANATORIO ALLENDE [1]; SERVICIO DE INFECTOLOGÍA, SANATORIO ALLENDE [2]

Introducción: La enfermedad gonocócica diseminada es una infección producida por *Neisseria gonorrhoeae* que se transmite por contacto sexual y produce principalmente manifestaciones articulares. Se presenta un caso clínico de un paciente inmunocompetente con artritis gonocócica.

Caso Clínico: Paciente de 16 años, ingresó con dolor de rodilla izquierda, refiere 5 días de evolución y fiebre constatada 38,1° C, sin antecedentes traumáticos. Se realiza RMN donde se observa edema intraarticular y no se observan lesiones ligamentarias ni meniscales. Laboratorio: GB 10,6 mil/mm^3, VSG 56 mm, PCR 17,08 mg%, se decide realizar punción de líquido articular para estudio bacteriológico y fisicoquímico. Se internó al paciente para realizar tratamiento antibiótico empírico con ceftriaxona más vancomicina. Examen fisicoquímico: Prot. Totales: 6,34gr%, Glucosa 7mg%, Citometría 110/mm3 con predominio de polimorfonucleares. Al servicio de bacteriología ingresó el líquido articular, se sembró en agar chocolate PolyViteX, y en botella de hemocultivo automatizado. En la coloración de Gram del material directo no se observan gérmenes, mientras que a las 24 hs., el sistema automatizado BACT/ALERT® 3D determina la positividad del frasco de hemocultivo, al cual se realizó coloración de Gram observándose diplococos Gram negativos, dicho material se sub cultivó en agar chocolate PolyViteX. Fig. 1 Al desarrollar la bacteria (fig. 1), se realizó la identificación de las colonias a través de la coloración de Gram (fig. 2), prueba de oxidasa y superoxol. Fig. 2 El diagnóstico confirmatorio se realizó mediante la tarjeta NH del sistema Vitek 2C (bioMerieux) siguiendo indicaciones del fabricante. Se realizó la determinación de beta lactamasa, la cual fue negativa. Con este resultado el cuerpo médico decidió realizar toilette artroscópico y se instauró tratamiento con cefixima vía oral por 15 días.

Conclusiones: La artritis gonocócica suele afectar a jóvenes sexualmente activos, por lo que hay que considerar su diagnóstico en presencia de individuos sanos con algún tipo de episodio de monoartritis. Basados en los altos índices de resistencia a penicilinas, tetraciclinas y ciprofloxacina, el tratamiento de elección incluye

a las cefalosporinas de 3° generación; como ceftriaxona de administración intramuscular y cefixima de administración oral. En febrero de 2018 Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud emitió un alerta epidemiológico por el incremento de infecciones por *N. gonorrhoeae* con resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido, ya que son la última línea de tratamiento para la gonorrea, por lo cual recomienda mantener la vigilancia para prevenir y controlar la resistencia.

MI 059

0380 - AISLAMIENTOS Y EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN UROCULTIVOS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS AMBULATORIOS

SIAREZ, Verónica Natalia | MOREY HERRERA, Jesica Elizabeth | CONTRERAS, Karina Isabel

HOSPITAL DE LA MADRE Y EL NIÑO. INMACULADA CONCEPCIÓN DE MARÍA

Introducción y Objetivos: Introducción y objetivos: La infección del tracto urinario (ITU) es considerada generalmente como la existencia de microorganismos patógenos en el tracto urinario con o sin presencia de síntomas. La resistencia antimicrobiana es un problema global creciente, que también afecta a los agentes etiológicos comunes de las ITU y puede implicar mayor morbimortalidad sin un tratamiento adecuado. Nuestros objetivos fueron determinar en un periodo de 2 años el aumento de aislamientos de enterobacterias y analizar la evolución de la resistencia antibiótica en los microorganismos más frecuentes aislados en urocultivos de pacientes pediátricos ambulatorios.

Materiales y Métodos: Materiales y métodos: Estudio descriptivo, retrospectivo en el periodo 2017-2018. Se revisó las historias clínicas con aislamientos de enterobacterias y se analizó los perfiles de resistencia de los microorganismos más frecuentes en urocultivos de pacientes pediátricos ambulatorios en un hospital agudo de tercer nivel. La sensibilidad se determinó por difusión en agar y VT 2C ® de los siguientes antibióticos trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), ampicilina (AMP), ampicilina-sulbactam (AMS), ciprofloxacina (CIP), cefalexina (CEF) y Nitrofurantoina (NIT), que se interpretó según estándares del CLSI.

Resultados: Resultados: Del total de muestras estudiadas con aislamientos positivos (2017 n: 68, 2018 n: 266) se observó un aumento porcentual del 291 %, de los cuales los microorganismos más frecuentes fueron *Escherichia coli*: 79,4% en 2017 y 85.7% en 2018 y *Klebsiella pneumoniae* 5.9% en 2017 y 6.4% en 2018. Considerando el total de cepas aisladas por año los porcentajes de resistencia antibiótica para cada enterobacteria fueron los siguientes: *E.coli*en 2017: AMP 75%, AMS 37%, CEF 59%, NIT 0%, TMS 26%, CIP 33% *E.coli* en 2018: AMP 75%, AMS 65%, CEF 54%, NIT 5%, TMS 47%, CIP 21% *K. pneumoniae* en 2017: AMS 50%, CEF 25%, NIT 25%, TMS 0%, CIP 25% *K. pneumoniae* en 2018: AMS 30%, CEF 18%, NIT 71%, TMS 6%, CIP 6%

Conclusiones: Conclusiones: Los resultados revelan un aumento porcentual de las enterobacterias aisladas en urocultivos en 2018 con respecto a 2017. Ante lo expuesto la resistencia antibiótica de *E.coli* aumento a AMS, NIT y TMS y disminuyo en CIP y CEF. Mientras que para *K. pneumoniae* el porcentaje de resistencia acrecentó en NIT y TMS y disminuyo para los restantes antibióticos. Resaltamos la importancia de los aislamientos y la evolución de la resistencia, dado que este patrón limita su uso al momento de tomar decisiones terapéuticas.

MI 060

0422 - DISTRIBUCIÓN DE SEROTIPOS Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN AISLAMIENTOS DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* INVASIVOS DE PACIENTES ADULTOS: PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA 2013-2018

ZINTGRAFF, Jonathan | GAGETTI, Paula | DANIELA, Napoli | FOSSATI, Sofia | MOSCOLONI, M.A | REGUEIRA, Mabel | CORSO, Alejandra

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: La enfermedad neumocócica es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, especialmente en pacientes con factores predisponentes y edad avanzada. El Programa Nacional de Vigilancia de Enfermedad Neumocócica Invasiva (ENI) en adultos se inició en Argentina en 2013. Nuestro objetivo fue estudiar la distribución de serotipos y la resistencia a los antimicrobianos de Streptococcus pneumoniae (Spn) causantes de ENI en > 18 años durante 2013-2018.

Materiales y Métodos: Se colectaron 910 aislamientos de Spn de sitios estériles en adultos > 18 años provenientes de 70 hospitales (17 provincias y CABA). Las cepas recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia fueron serotipificadas por la reacción de Quellung y las CIMs se determinaron por el método de dilución en agar (CLSI2018).

Resultados: El 44,7% de los aislamientos correspondieron al grupo > 65 años. La distribución diagnóstica fue: neumonía (67%), meningitis (13,6%), sepsis (13,5%), otras (5,9%). Los aislamientos se agruparon en 64 serotipos. Los serotipos prevalentes fueron: 3 (10,%), 8 (8,9%), 12F (8,6%), 7F (7,5%), 1 (7,1%), 19A (4,3%), 24 (3,6%), 22F (3,5%), 14 (3,0%), 9V (2,7%). La distribución de serotipos fue similar entre los grupos etarios 18-64 y > 65 años, excepto para los serotipos 1 y 6C. En el grupo de 18-64 años predominó el serotipo 1, mientras que en el grupo > 65 el serotipo 6C fue prevalente (p<0,05). El 18,9% de los aislamientos fue No-sensible (I+R) a penicilina (NS-PEN) según el punto de corte de meningitis (CIM ≥0.12 µ;g/ml), 16,1% CIM 0,12-1 µ;g/ml y 2,8% CIM µ;g/ml, sólo 0,6% fue NS-PEN según punto de corte de sitio no meníngeo (CIM≥4 µ;g/ml). La NS-PEN se asoció con los serotipos 19A (16,6%), 24F,A,B (14,2%), 14 y 16F (8,9%). La NS fue (%): cefotaxima 2,5%/0,3% según punto de corte para meningitis/no-meningitis, amoxicilina 0,4%, meropenem 2,9%, eritromicina 11,2%, tetraciclina y doxiciclina 18,6% y trimetoprima-sulfametoxazol 32,4%. Todos los aislamientos fueron sensibles a rifampicina, levofloxacina, cloranfenicol, vancomicina y ceftarolina.

Conclusiones: Durante el periodo de estudio se observaron diferencias significativas en la distribución de algunos serotipos en los dos grupos estudiados. El Programa de Vigilancia Nacional de la ENI en adultos es relevante para definir los tratamientos empíricos y evaluar los cambios en la epidemiología y el impacto de las vacunas.

MI 061

0427 - INFECCIONES POR *VAGOCOCCUS SPP.* ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS Y CLÍNICOS DE UN NUEVO PATÓGENO

RACERO, Laura [1] | BARBERIS, Claudia[2] | TRAGLIA, German[2] | MANGANELLO, Silvana[3] | LOZA, Susana[4] | SLY, Gabriela[4] | FAMIGLIETTI, Angela[2] | VAY, Carlos[2] | ALMUZARA, Marisa[2]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. FFYB.LAB. BACTEIOLOGÍA. HOSP. DE CLÍNICAS JOSÉ DE SAN MARTÍN. [1]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. FFYB. LAB. BACTERIOLOGÍA. HOSP. DE CLÍNICAS JOSE DE SAN MARTIN. [2]; HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS " DALMACIO VELEZ SARSFIELD" [3]; HOSPITAL INTERZONAL GENERAL DE AGUDOS "EVA PERÓN". [4]

Introducción y Objetivos: El género Vagococcus comprende 13 especies, solo Vagococcus salmoninarum y Vagococcus fluvialis han sido asociadas a enfermedad infecciosa en animales; sin embargo, su significancia como patógenos humanos, permanece incierta. La primera evidencia de una conexión de V. fluvialis con posibles infecciones humanas fue comunicada por Teixeira L en 1997. Sin embargo, no hay descripción posterior de infecciones humanas por esta especie en la literatura. En los últimos años un aumento en la frecuencia de aislamientos de Vagococcus spp. a partir de muestras clínicas, nos estaría indicando la emergencia de la infección por este patógeno en nuestro medio. Objetivo Evaluar los aspectos microbiológicos y clínicos de aislamientos de Vagococcus spp. recuperados a partir de muestras clínicas (periodo 2014-2018).

Materiales y Métodos: Estudio prospectivo observacional de aislamientos consecutivos de Vagococcus spp. provenientes de muestras clínicas humanas. La identificación fenotípica se realizó con pruebas bioquímicas convencionales (Christensen J 2015), y por espectrometría de masa (EM) (MALDI-TOF, Bruker, Becton Dickinson). La identificación molecular por amplificación y posterior secuenciación del ADNr 16S. La sensibilidad antibiótica utilizando el sistema automatizado Vitek 2C (bioMérieux) y como puntos de corte los establecidos por el CLSI 2017 para Enterococcus spp. Se recabó información de las historias clínicas sobre: edad, sexo, comorbilidades, tipo de infección, y evolución a fin de evaluar su rol en la clínica humana.

Resultados: Durante el periodo 2014-2018 se recuperaron 15 aislados de Vagococcus spp. a partir de muestras clínicas humanas (piel y partes blandas 8, muestras óseas 5, hemocultivos 1, urocultivo 1). No pudieron identificarse a nivel de especie por metodología convencional, 14 de ellos identificados por EM y por Vitek2C como V. fluvialis, fueron confirmados por secuenciación del ADNr 16S, aunque en 3 casos esta metodología no permitió discriminar entre V. fluvialis/V. carniphilus. El único aislado identificado por EM como V. lutrae fue confirmado por biología molecular mientras que fue erróneamente identificado como V. fluvialis por Vitek2C.Todos fueron sensibles a ampicilina, vancomicina, teicoplanina, y linezolid, se observó un 40 % de resistencia a fluorquinolonas y un 80 % a tetraciclinas. Se trataba de 12 hombres y 3 mujeres, el rango etario 47 -78 años, 12 pacientes (80 %) eran diabéticos con diagnóstico de osteomielitis, otras comorbilidades: osteonecrosis de cadera y arteriopatía distal; en el 66 % el cultivo fue polimicrobiano. 2 pacientes fallecieron.

Conclusiones: Esta comunicación representa el primer reporte de Vagococcus spp. en infecciones humanas y un aporte al conocimiento de los aspectos microbiológicos y clínicos de este nuevo patógeno. Su reconocimiento principalmente a partir de partes blandas y óseas de pacientes diabéticos nos permitirá conocer el verdadero rol de este microorganismo en la infección humana.

MI 062

0443 - ENTEROBACTERIAS PORTADORAS DE CARBAPENEMASAS DEL GRUPO OXA-48. DISEMINACIÓN CLONAL Y PLASMÍDICA E IDENTIFICACIÓN DE VARIANTE OXA-163

BALLERINI, Viviana Alicia [1] | DIAZ, Maria Susana Del Lujan[2] | BORGO, Mónica[2] | GRANADOS, Graciela[2] | KOZICKI, Graciela[1]

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA HOSP. CARRASCO. DIRECCIÓN DE BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO [1]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CEMAR. DIRECCIÓN BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO. [2]

Introducción y Objetivos: Las cepas sospechosas de producir carbapenemasas (CP) deben ser identificadas y confirmadas dada la tendencia a producir brotes nosocomiales ya sea por diseminación clonal como plasmídica con marcada propensión a la persistencia siendo mandatorio la implementación de la vigilancia específica. Es necesario utilizar métodos moleculares, incluida la secuenciación para determinar la clase de CP en cuestión y que permita implementar las herramientas necesarias que controlen su propagación. Las enzimas del grupo OXA-48(OXA-48), presentan diversidad bioquímica -genética y espectro variable de hidrólisis hacia los ß -lactámicos e incluye variantes como la 163 de aparición y diseminación reciente en nuestro país. Se plantea: 1-Estudiar probable brote. 2-Identificar reservorio.3-Determinar relaciones clonales dentro de las distintas especies.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 15 aislamientos de enterobacterias (EB) con características fenotípicas de producción de CPs en el periodo 08/18-02/19. 12/15 provinieron de nosocomio A: 10 Klebsiella pneumoniae (Kpn); 1 Enterobacter cloacae (Ecl) y 1 Escherichia coli (Eco) de los cuales 1/10 Kpn fue derivado de sala general (SG); 7/10, Eclo y Eco de Neonatología (Ne) y 2/10 obtenidos de muestras ambientales de esa sala. El resto de EB (3/15:2Kpn y 1Ecl) provinieron de un mismo paciente de nosocomio B relacionado con A por red de salud, en un lapso de 2 meses. La fenotipia incluyó valores de CIM, sinergias, Hodge c/s tritón y Carba Blue. Se realizó PCR para la detección de CPs BlaKpc y OXA-48 y para gen PilV en Kpn BlaKpc. Se secuenciaron 4 productos de PCR. Para la relación clonal se realizó rapds con cebadores 19 y 5314.

Resultados: 9 Kpn, Eco y Ecl de Ne fueron positivas para OXA-48, al igual que Kpn de SG que además fue portadora de BlaKpc y negativa para PilV. Kpn BlaKpc OXA-48 de SG por secuenciación resultó variante 48 (O48/48) y KPC2. 1 /9 Kpn OXA-48 de Ne por secuenciación resultó variante 163(O48/163) y las 9 fueron clonales. Ecl de B resultó O48/163 y BlaKpc negativo. Las 2 Kpn BlaKpc de B fueron PilV negativo y clonales y distintas a Kpn BlaKpc OXA48/48. Todos los aislamientos O48/163 presentaron sinergia Imipenem/Ceftazidima. No se observó relación clonal entre Kpn BlaKpc O48/48 y Kpn O48/163 no obstante ser madre e hijo. Ecl O48/163 de B y Ecl OXA-48 de A pertenecieron a distintos clones.

Conclusiones: Hubo diseminación clonal de Kpn O48/163 y diseminación horizontal del gen entre Kpn, Ecl y Eco en Ne de A confirmándose brote cuyo reservorio se halló en el entorno de la sala. El paciente de B evidenció episodios provocados por 2 EB portadoras de O48/163 y BlaKpc respectivamente sin relación clonal con las correspondientes EB de A. Es necesario la extrema limpieza/desinfección en las salas de internación al igual que la higiene de manos de todo el personal involucrado. Estar atentos a este tipo de fenotipia y utilizar métodos moleculares para su confirmación.

MI 063

0462 - BACTERIEMIA POR *RALSTONIA INSIDIOSA*. REPORTE DE UN CASO

VERONA, Julián [1] | ZORATTI, Alicia[1] | VERONA, María Florencia[1] | DIRIALDI, Noelia Cecilia[2] | MUTTI, María Virginia[2] | TREVISAN, Stella Maris[3] | ALLENDE, Denis Jorge[3] | MALDONADO, Maria Laura[4] | LITTERIO BÜRKI, Mirta R.[4] | CIPOLLA, Lucía[5] | PRIETO, Mónica[5]

LABORATORIOS VERONA / HOSPITAL DE BALCARCE "DR. FELIPE A. FOSSATI" [1]; HOSPITAL DE BALCARCE "DR. FELIPE A. FOSSATI" [2]; CENTRO DE DIÁLISIS BALCARCE [3]; HOSPITAL DE PEDIATRÍA "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN" [4]; SERVICIO DE BACTERIOLOGÍA ESPECIAL. DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA, INEI - ANLIS "DR. CARLOS MALBRÁN" [5]

Introducción: El género *Ralstonia* comprende bacilos Gram negativos aerobios, no fermentadores, móviles y oxidasa positivos. No forman esporas ni cápsulas. En la actualidad, las especies de importancia clínica dentro del género son *R pickettii*, *R insidiosa* y *R mannitolytica*. Estas especies pueden ser encontradas en depósitos de agua y como contaminantes en el entorno hospitalario, debido a que se adaptan a sobrevivir en condiciones de baja concentración de nutrientes. También, se las ha reportado asociadas a infecciones severas como osteomielitis y meningitis.

Caso Clínico: En el presente reporte informamos un caso de bacteriemia causada por *R insidiosa* en una paciente hemodializada de 59 años de edad. El cuadro fue posterior a un evento de diálisis. La paciente presentó escalofríos y fiebre. Probable foco endovascular (catéter central). Debido a la ausencia de venas periféricas se realizaron 2 retrocultivos. El laboratorio informó bacilos Gram negativos no fermentadores en ambos. Cinco días después, la paciente volvió a cursar un cuadro de similares características, por lo que se extrajeron, nuevamente, 2 retrocultivos en los cuales se recuperó, en ambas botellas, el mismo microorganismo que en un principio. En este segundo episodio, la paciente tuvo que ser derivada al hospital. Se inició el tratamiento antimicrobiano con ceftazidima (2 g / 48 hs) y paracetamol. Se decidió la internación en Clínica Médica. Presentó hipotensión: 110 / 60 mmHg, pulso: 63 / min, temperatura: 36,2º C; saturación O2:

93 %. Datos de laboratorio: recuento de glóbulos rojos: 3.930.000 / mm3; hematocrito: 37,4 %; hemoglobina: 11,4 mg/dl; recuento de glóbulos blancos: 9.900 / mm3 (91,3 % neutrófilos; 6,9 % linfocitos; 1,8 % otros); recuento de plaquetas: 147.000 / mm3; hepatograma (TGO: 40,8 U/l; TGP: 14,5 U/l; bilirrubina total: 0,44 mg/dl; bilirrubina directa: 0,31 mg/dl; FAL: 191 U/l); urea: 80 mg/dl; creatinina: 3,65 mg/dl; ionograma [meq/l]: sodio 137; potasio 3,92 y cloruro 99,4. Se descartó foco pulmonar mediante radiografía de tórax y cardíaco por ecocardiograma resultando función sistólica y cavidades conservadas. Las válvulas impresionaron libres de vegetaciones. La paciente evolucionó favorablemente y recibió el alta de internación tres días después. El microorganismo aislado fue identificado por pruebas bioquímicas convencionales y galerías Remel RapID® NF Plus System. Posteriormente, se procesó por espectrometría de masa (MALDI TOF) y, finalmente, la identificación fue confirmada por secuenciación parcial del gen 16S ARNr como *R insidiosa*. Se efectuaron pruebas de sensibilidad a todos los antimicrobianos disponibles, por método de difusión con monodiscos, mediante Etest y por sistema Sensititre.

Conclusiones: Existen muy escasos reportes de *R insidiosa* asociada a infecciones en humanos en el mundo. De acuerdo a la búsqueda bibliográfica, este es el primer caso de bacteriemia por este microorganismo reportado en Argentina.

MI 064

0473 - VERIFICACIÓN ANALÍTICA DE UN KIT PARA LA DETECCIÓN DEL GEN REC A DEL COMPLEJO *BURKHOLDERIA CEPACIA* A PARTIR DE MUESTRAS DE ESPUTO DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA. UTILIDAD EN MUESTRAS CLÍNICAS

GODOY, Alejandra | BARAN, Ezequiel | BENENCIA, María Eugenia | PEREZ, Fernando | VOGEL, Alejandra | CARBONE, Ruth | TORRES, Vanina | CAZZOLA, María Laura | GONZALEZ, Julieta | BARIDON, María de Los Ángeles

HOSPITAL INTERZONAL GENERAL DE AGUDOS PROFESOR DR. R. ROSSI, LA PLATA.

Introducción y Objetivos: Las bacterias del complejo *Burkholderia cepacia* (BCC) son patógenos oportunistas, estableciendo infecciones severas en pacientes con fibrosis quística (FQ), generando mortalidad y complicaciones post trasplante. En nuestro centro, el diagnóstico depende del aislamiento de la cepa y posterior derivación para su confirmación por PCR; su detección a partir de muestras de esputo acortaría los tiempos diagnósticos. El gen Rec A es específico del BCC. OBJETIVO: Verificación analítica de un kit de PCR en tiempo real para la detección del gen Rec A del BCC, a partir de muestras de esputo. Utilidad en muestras clínicas.

Materiales y Métodos: -Verificación analítica. Se usó el Kit de PCR de PrimerdesignTMLtd BCCRecA. Se evaluó: 1)Rango dinámico: 6 diluciones del testigo positivo del gen Rec A; 2)Límite de detección: 20 réplicas de la mayor dilución; 3)Especificidad: se analizaron por PCR cepas controles de patógenos frecuentemente encontrados en muestras de esputo de pacientes FQ; 4)Control endógeno: se evaluó la presencia de un gen endógeno. -Utilidad en muestras de esputo. Se analizaron 209 esputos de pacientes con FQ desde junio-2017 a marzo-2019. Se realizó un pre-tratamiento de las muestras seguido de la extracción del ADN. Se analizaron 14 cepas por PCR compatibles con BCC cuando se recuperó la bacteria.

Resultados: -Verificación analítica: 1)Rango dinámico: curva estándar de las diluciones del testigo: Y=-3.42 X + 33.49 (R2: 0.99), eficiencia: 96.08%; 2)Límite de detección: réplicas Ct medio: 34,15; 3)Especificidad: cepas control de patógenos frecuentes: no detectables, cepas del BCC: detectables; 4)Control endógeno: se detectó en todas las muestras. -Utilidad en muestras de esputo: De las 205 muestras, 38 fueron positivas para el gen Rec A, de las cuales 25 correspondían al seguimiento de 8 pacientes con antecedentes previos de aislamientos de bacterias del BCC, y 13 correspondían a 9 pacientes sin antecedentes previos. De las 14 cepas procesadas por PCR: 6 correspondieron a BCC y 8 resultaron negativos y no se correspondían con BCC.

Conclusiones: Se logró verificar los parámetros analíticos declarados por el fabricante. Se encontró amplificación del gen Rec A de colonia y esputo en 4 pacientes que tuvieron aislamientos del BCC. En 4 pacientes con antecedentes de BCC, se amplificó el gen Rec A en esputo, pero no se logró el aislamiento bacteriano. Esto dejó en evidencia la dificultad en aislar y tipificar el BCC. En 13 pacientes sin antecedentes de aislamientos del BCC se detectó amplificación del gen Rec A en esputo. El testeo del gen Rec A a partir de esputo, permitió obtener resultados rápidos y generó un cambio de conducta clínica; optimizó la atención de los pacientes sin antecedentes en otro recinto, hasta confirmación por cultivo de BCC; permitió instaurar tratamientos de erradicación; mejoró la calidad de vida de los pacientes, optimizando las alternativas en el inicio de los protocolos de trasplante. Se requiere continuar trabajando para validar la utilidad de las muestras de esputo para el diagnóstico de BCC.

MI 065

0486 - CARACTERIZACIÓN EPIDEMIO-MOLECULAR DE *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE* COMO CAUSANTE DE DIARREA CRÓNICA EN PACIENTES HOSPITALIZADOS. PARAGUAY

ORREGO MIRANDA, Maria Veronica | NATALIE, Weiler | MARTINEZ MORA, Mario

LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PUBLICA

Introducción y Objetivos: Clostridioides difficile (C. difficile) se ha descrito recientemente como la primera causa de infecciones intrahospitalarias en hospitales de Estados Unidos. Es un bacilo gram positivo esporulado capaz de sobrevivir en el ambiente hospitalario y comunitario y generalmente afecta a pacientes internados con el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro. Posee una citotoxina tcdB y una enterotoxina tcdA, cuya sinergia de ambas toxinas causan daños severos en la mucosa del intestino. Los genes que codifican estas toxinas se encuentran en el locus de patogenicidad de C. difficile. Además, varias supresiones en el gen tcdC, un regulador negativo putativo de la expresión de los genes de la toxina A (tcdA) y la toxina B (tcdB) han sido identificadas, y estas eliminaciones dan como resultado niveles más altos de la expresión de los mismos. El objetivo de este trabajo es caracterizar epidemiológica y molecularmente a C. difficile en pacientes hopitalizados.

Materiales y Métodos: Estudio descriptivo de corte transverso, prospectivo, cumpliendo con las cuestiones éticas de estudios poblacionales. Como instrumento de medición ficha epidemiológica conteniendo el consentimiento informado por el paciente o responsable en el momento de la solicitud del estudio. Se estudiaron 850 muestras diarreicas crónicas de etiología desconocidas, de pacientes hospitalizados o con antecedente de hospitalización previa, y no asociada al uso de lactulosa. De las muestras remitidas se procedió a la extracción de ADN con el equipo automatizado MaxPurix de origen india y a la detección primeramente de las toxinas A y B, según protocolo et al. Persson y cols. (2008) De las muestras positivas, se procedió primeramente a la siembra en Agar Clostridium marca pronadisa e incubación a 37ªC en anaerobiosis y segundo a la detección de toxinas binarias y de delecciones en el gen tcdC, según protocolo et al. Govind (2005) De las muestras con crecimiento bacteriano, se realizó electroforesis de campo pulsado (PFGE) para la detección de cepas clonales.

Resultados: De las 850 muestras estudiadas, 207 fueron C. difficile toxigénico (25%), con presencia toxinas A y B en 169 cepas positivas (82%). Se detectó un 10% cepas con el gen ctd y delección del gen tcdC. Las cepas procedían de varias instituciones hospitalarias y de diferentes áreas de internación. Se observó que la mayor población con muestras positivas está comprendida entre los 61 a 80 años de edad. En cuanto a frecuencia en el uso de antimicrobianos se observó un mayor uso de betalactámicos (40%), seguido de fluoroquinolonas (22%), lincosamidas (18%) y otros antimicrobianos (20%). Se analizaron 30 cepas positivas por PFGE, de las cuales se detectó 5 perfiles clonales con presencia de varios clusters con 100% relación genética.

Conclusiones: Se observó una prevalencia importante de Clostridioides difficile toxigénico con mayor porcentaje de toxinas A y B; y menor proporción de toxinas binarias y delecciones a nivel del gen tcdC. La población afectada se caracteriza entre pacientes de 61 a 80 años, con mayor exposición a antimicrobianos de amplio espectro. La presencia de clusters sugiere la presencia de brotes nosocomiales en instituciones de salud del país.

MI 066

0442 - *PEPTONIPHILUS ASACCHAROLYTICUS*. DE PIEL A SANGRE CON UNA ESCALA

MALDONADO, Maria Laura | HIGHTON, Esmeralda | RUVINSKY, Silvina | HERNÁNDEZ, Claudia | LITTERIO, Mirta Rosa

HOSPITAL DE PEDIATRIA S.A.M.I.C. "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN"

Introducción: El absceso cerebral es un proceso supurativo focal en el parénquima cerebral de presentación poco frecuente con alta mortalidad y morbilidad. En pediatría la mayoría son secundarios a otitis media aguda y los cocos gram positivos aerobios son los agentes etiológicos predominantes, *Streptococcus* grupo *viridans* en un 60-70%. Los abscesos cerebrales en niños menores de 2 años son raros. Presentamos un caso de aislamiento de *Peptoniphilus asaccharolyticus* en un paciente pediátrico a partir de absceso cerebral secundario a seno dérmico infectado y bacteriemia. El género *Peptoniphilus*, *phylum Firmicutes*, incluye 17 especies de cocos gram positivos anaerobios (CGPA). *P. asaccharolyticus* forma parte de la microbiota normal de piel y mucosas.

Caso Clínico: Paciente de 1 año y 4 meses, previamente sana, con diagnostico de quiste dérmico en región occipital diagnosticado desde nacimiento que 3 días antes de su internación comienza con aumento de tamaño y supuración. Consulta de forma ambulatoria y le indican tratamiento con cefalexina. Evoluciona desfavorablemente. Por status convulsivo consulta en nuestro hospital. Al ingreso se realiza TC de cerebro en la cual se observan imágenes hipodensas de aspecto quístico en región occipital compatibles con absceso. Se observa solución de continuidad de la piel a nivel occipital. Es evaluada por servicio de neurocirugía que decide intervención quirúrgica para abordaje terapéutico. *P. asaccharolyticus* se recuperó a partir de material de fibrosis subgaleal, de drenaje de absceso cerebral y de sangre. Recibió tratamiento con meropenem y vancomicina. Evolucionó favorablemente. Luego de 56 días de internación se otorgó egreso hospitalario con pautas de alarma y control ambulatorio.

Conclusiones: Destacamos: 1) la participación inusual de *P. asaccharolyticus* como agente etiológico de absceso cerebral secundario a seno dérmico infectado y bacteriemia, 2) el valor de técnicas adecuadas de cultivo para confirmar etiologías bacterianas anaerobias.

MI 067

0505 - ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE AMOXICILINA@AUNP EN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

ROCCA, Diamela María [1] | SILVERO, María Jazmín[2] | BECERRA, María Cecilia[3]

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. [1]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. [2]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. [3]

Introducción y Objetivos: La resistencia a antimicrobianos de uso clínico es uno de los problemas que más impacto tiene en el sector de salud pública en la actualidad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha incluido recientemente a *P. aeruginosa* resistente a carbapenem como una de las tres especies bacterianas en las que existe una necesidad crítica de desarrollar nuevos antibióticos o estrategias terapéuticas para tratar las infecciones [1]. El uso de nanopartículas (NPs) metálicas como fotosensibilizadores en Terapia Fotodinámica Antimicrobiana (PACT) surge como alternativa a esta problemática. En el presente trabajo se evaluó la actividad antimicrobiana de Amoxicilina@AuNP en PACT [2], en una cepa clínica de *P. aeruginosa*, mediante recuento en placa.

Materiales y Métodos: Para ello, 100 uL de una suspensión bacteriana de *P. aeruginosa* (10^6 UFC/mL) fue tratada con 100 uL de Amoxi@AuNP a dos concentraciones, 1,5 ug/mL y otra diez veces menor, en condiciones de oscuridad y de irradiación con luz blanca procedente de un panel de LEDs, a diferentes tiempos de incubación por un total de 90 minutos. Se realizaron en paralelo, controles de crecimiento en luz y oscuridad. Para el estudio del mecanismo de acción de las nanopartículas, se realizó un co-cultivo de *P. aeruginosa* con células sanguíneas (la sangre se obtuvo de donantes voluntarios sanos). Una de las muestras fue irradiada por 10 minutos y la otra (control) fue mantenida en oscuridad y se procesaron para microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Resultados: Se obtuvo un efecto bactericida luego de 30 minutos de irradiación con Amoxicilina@AuNP 1,5 ug/mL. La luz por sí sola no tuvo ningún efecto inhibitorio en el control bacteriano sin tratar. En las imágenes TEM de la muestra sin irradiar se pudo apreciar cómo las nanopartículas ingresan en la estructura bacteriana, en la muestra irradiada se apreció el daño estructural: la membrana externa se desprendió de la pared y se observó un notorio cambio en la estructura bacteriana comparado con la muestra control sin irradiar. Al mismo tiempo, se observó claramente que los glóbulos rojos mantuvieron su integridad y no se observaron nanopartículas en su interior o unidas a su membrana.

Conclusiones: Se concluye que la PACT con Amoxicilina@AuNP tendría un excelente potencial para el tratamiento de enfermedades infecciosas causada por Pseudomonas. Futuras investigaciones son necesarias para ahondar en el mecanismo de acción de estas NPs y ampliar el estudio a otros patógenos.

MI 068

0518 - ANÁLISIS PROTEÓMICO COMPARATIVO PARA LA DETECCIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 EMPLEANDO ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDI-TOF MF

MANFREDI, Eduardo [1] | ROCCA, María Florencia[1] | BARRIOS, Rubén[2] | MILIWEBSKY, Elizabeth[1] | DEZA, Natalia[1] | CARBONARI, Claudia Carolina[1] | BASCHKIER, Ariela[1] | CHINEN, Isabel[1]

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; BD DIAGNOSTIC SYSTEM [2]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno transmitido por los alimentos asociado a casos esporádicos y brotes de diarrea con y sin sangre, y síndrome urémico hemolítico. Si bien hay más de 200 serotipos que comparten el mismo potencial patogénico, el más reconocido es el O157:H7. En los últimos años se ha desarrollado y es muy utilizada la tecnología "Desorción/ionización láser asistida por una matriz con detección de masas por tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS)" para la identificación de microorganismos mediante el análisis de proteínas a través de un espectro de masas que es específico para cada género y especie. El objetivo de este trabajo fue estandarizar la metodología MALDI-TOF MS y el análisis proteómico mediante softwares específicos para poder discriminar e identificar *E. coli* O157:H7/Stx+ de otras cepas de *E. coli* diarreigénico (DEC).

Materiales y Métodos: Mediante MALDI-TOF MS se procesaron un total de 201 cepas de: *E. coli* enteropatógeno (EPEC), *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), *E. coli* enteroinvasivo (EIEC), *E. coli* enteroagregativo (EAEC), STEC O157:H7, STEC no-O157 y *E. coli* O157 no toxigénico, previamente

caracterizadas por métodos de referencia. Para el análisis de los espectros se utilizaron softwares como: "MaldiBiotyper Real Time Classification (MBRT)" para corroborar la identificación a nivel de especie de los microorganismos; "Flex Analysis (FA)" para asegurar la reproducibilidad en los espectros y para la búsqueda de picos biomarcadores; y "CLIN PRO TOOLS (CPT)" para el desarrollo del modelo STEC O157:H7 vs. DEC, aplicando los siguientes algoritmos estadísticos de diferenciación: GA, QC y SNN. Para este fin se emplearon los espectros obtenidos de las siguientes cepas: EPEC (n=15), ETEC (n=15), STEC O157 (n=10) y STEC no-O157(n=20). Luego con el mismo modelo se desafiaron otras 141 cepas de EPEC (n=12), ETEC (n=11), EAEC (n=15), EIEC (n=7), STEC no O157 (n=17), STEC O157:H7 (n=65), *E. coli* O157 no toxigénico (n=12), y 2 *E. coli* sin factores de virulencia.

Resultados: Con la aplicación de un algoritmo multivariante (GA/QC) junto con la determinación del punto de corte, se pudo distinguir las cepas Stx+ del serotipo O157:H7 con un alto grado de discriminación. Por otro lado, se realizó la búsqueda de picos biomarcadores empleando FA, obteniéndose 5 picos característicos diferenciales para el grupo STEC O157:H7: 3017 DA, 3083 DA, 3593 DA, 4939 DA y 6037 DA.

Conclusiones: Mediante el uso de softwares, fue posible identificar STEC O157:H7 con respecto al resto de *E. coli* diarreigénico, con una probabilidad del 98%. Por otro lado, la identificación de picos biomarcadores sería de gran utilidad para laboratorios que forman parte de la Red Nacional de Espectrometría de Masas (RENAEM), para poder identificar de forma sencilla y rápida, colonias presuntivas de STEC O157:H7 previo al envío al centro de referencia para su completa caracterización.

CAM - Colecciones de cultivos

MI 069

0083 - CONSERVACIÓN DE BACTERIAS DEL ÁCIDO ACÉTICO MEDIANTE LIOFILIZACIÓN Y CONGELACIÓN

GERARD, Liliana Mabel | DAVIES, Cristina Verónica | CORRADO, María Belén | SOLDA, Carina Alejandra

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA DE AGUAS Y ALIMENTOS, FAC. CS. DE LA ALIMENTACIÓN, UNER

Introducción y Objetivos: Al momento de evaluar métodos de conservación de cultivos microbianos no sólo se requiere viabilidad sin que se produzcan cambios fenotípicos sino que se debe asegurar el mantenimiento de sus actividades metabólicas, especialmente las relacionadas con la producción de los metabolitos de interés para procesos biotecnológicos. Si bien existen varios métodos, es necesario realizar estudios que permitan determinar cuál es el óptimo para cada microorganismo. El objetivo fue estudiar la metodología más apropiada de conservación de cultivos de bacterias del ácido acético (BAA) que permitan el mantenimiento de su pureza y actividad a lo largo del tiempo.

Materiales y Métodos: Las BAA fueron inoculadas en caldo GY (1% glucosa, 1% extracto de levadura) e incubadas a 30 °C/72 h bajo agitación orbital a 200 rpm. El cultivo bacteriano fue fraccionado en 4 tubos cónicos y centrifugados a 4000 rpm/20 min. Las células fueron re-suspendidas en 3,0 mL de diferentes disoluciones crioprotectoras (20% (v/v) glicerol, 20% manitol) y lioprotectoras (20% manitol y 10% leche descremada en polvo). Luego, se tomaron 200 µL de cada suspensión y se dispusieron en viales para su congelación y liofilización, respectivamente. Los liofilizados fueron almacenados a 5 °C y a temperatura ambiente, mientras que los viales congelados se mantuvieron a -20 °C. Para los ensayos de viabilidad, las BAA liofilizadas fueron re-hidratadas con 200 µL de agua de peptona, homogeneizadas y almacenadas a 30 °C/30 min. Las BAA congeladas fueron descongeladas en las mismas condiciones. Posteriormente se hicieron diluciones decimales, se sembraron en agar GY y se incubaron a 30 °C/7 días. El recuento de BAA se realizó antes y después de la congelación y luego del proceso de deshidratación, a 0, 60 y 180 días. Finalizado el período de conservación se verificó si mantenían su capacidad de producir ácido acético.

Resultados: No hubo diferencias en los recuentos pre y poscongelación con los crioprotectores utilizados. Luego del proceso de deshidratación se alcanzaron valores de viabilidad entre el 80 y 99%. Finalizado el período de conservación, la viabilidad en el almacenamiento a 5°C osciló entre 61,5 y 84% para manitol mientras que para leche en polvo fue superior a 80%. Los liófilos almacenados a temperatura ambiente tuvieron una pérdida considerable de viabilidad respecto de las conservadas a 5 °C. Al cabo de 180 días de congelación se obtuvieron los valores más altos de viabilidad con ambos crioprotectores: manitol (95-96%) y glicerol (90-97%). La velocidad de acetificación de los aislados congelados se mantuvo respecto de los aislados que no fueron sometidos a tratamiento alguno. En cambio, la liofilización modificó levemente esa capacidad.

Conclusiones: Tanto glicerol como manitol pueden ser utilizados como eficientes crioprotectores ya que no sólo mantienen la viabilidad de las BAA sino también sus propiedades funcionales. La leche en polvo descremada se podría utilizar como lioprotector para las BAA.

MI 070

0382 - CREACIÓN DE UN BANCO DE CEPAS AUTÓCTONAS DE *CHLAMYDIA PSITTACI* EN LA ARGENTINA

CADARIO, María Estela [1] | ORIGLIA, Javier A[2] | NUSBLAT, Leonora[3] | MADARIAGA, María Julia[4] | VILAR, Gabriela N[1] | FRANCALANCIA, Verónica[1] | FRUTOS, María Celia[5] | CUFFINI, Cecilia[5] | LARA, Claudia S[1] | TEIJEIRO, María[4] | TOUS, Mónica[1] | PÉREZ, Celeste[1]

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLP [2]; UOCCB . ANLIS DR. CARLOS G. MALBRÁN [3]; INSTITUTO DE ZOONOSIS LUIS PASTEUR. DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS. [4]; INSTITUTO DE VIROLOGÍA JOSÉ MARÍA VANELLA [5]

Introducción y Objetivos: La psitacosis es una zoonosis de denuncia obligatoria producida por *Chlamydia psittaci*. Existen diversos genotipos que se relacionan con varias especies de aves y mamíferos. El hombre se infecta al inhalar aerosoles de excretas, contacto con plumas o fómites desde animales infectados. La sintomatología clínica más frecuente es la neumonía. Tiene gran importancia su rápida detección y genotipificación en humanos y aves relacionadas. Para ello es importante contar con cepas de diferentes genotipos circulantes en nuestro medio. El objetivo de este trabajo es mostrar los avances realizados en la creación de un banco de cepas autóctonas de *C. psittaci*

Materiales y Métodos: En nivel de seguridad biológica de tipo III (UOCCB- ANLIS MALBRÁN) se cultivaron muestras respiratorias de pacientes recibidas en el LNR. Además, se procesaron muestras de aves con resultado positivo por PCR. Las muestras se tomaron entre el 01-01-2017 y el 30-04-2019. Se las introdujo en medio UTM o SPG y se conservaron a 4°C. Se pasaron por filtros de 45 µm de poro. Se inocularon placas con una monocapa de células VERO, con 200 µl de muestra y 300 µl de medio de infección (DMEM de alta glucosa con 10% de SFB, anfotericina B y gentamicina). Se centrifugaron a 3.200 g y a 37°C por 1 h. Luego se incubó 1 h a 37°C con 5% de CO2, se descartó el inóculo y se agregó 0,5 ml de medio de infección más cicloheximida. Se mantuvieron las placas a 37°C con 5% de CO2 por 96 h. Inicialmente se observó el efecto citopático y se colorearon con Giemsa e identificaron por inmunofluorescencia (IFI-Ag) con anticuerpos monoclonales anti-LPS y anti-ratón. Además se detectó ADN por PCR en tiempo real (gen *23SrRNA* de *Chlamydiaceae*). Se continuó la rutina de identificación de los cultivos con IFI-Ag y PCR en tiempo real. A las positivas se les realizó una PCR (*ompA*, 1050pb) para secuenciar y se analizaron las secuencias de un segmento formado por 402 aminoácidos (aa) (aa 23 al 334). El método utilizado fue el Neighbor-Joining. El dendograma de consenso *bootstrap* fue inferido a partir de 1.000 pseudoréplicas. El dendograma se realizó con el programa MEGA7. Los aislamientos se amplificaron en un nuevo pasaje y se guardaron a -80°C.

Resultados: De 107 muestras humanas cultivadas se pudieron genotipificar 4 con genotipo A y de 115 muestras aviares 10, 5 con genotipo A, 4 con B y 1 con E.

Conclusiones: El aislamiento de cepas autóctonas permite realizar estudios epidemiológicos, de resistencia antibiótica, secuenciación de genoma completo y coleccionar cepas autóctonas. *C. psittaci* es considerado un agente de bioterrorismo por lo que no es posible adquirir cepas referenciales desde otros países. A partir de éstos aislamientos genotipificados hemos comenzado con la creación de un banco de cepas autóctonas procedentes de casos humanos con psitacosis y aves de Argentina. Apoyo económico FOCANLIS 2015.

MI 071

0439 - EVALUACIÓN DE LA SUPLEMENTACIÓN CON UN SUERO FETAL BOVINO DE ORIGEN NACIONAL EN DOS LÍNEAS CELULARES IN VITRO. RENDIMIENTO Y FUNCIONALIDAD

FELICIOTTI, Daniela Soledad | FRANCALANCIA, Verónica | ROVITO, Carla | LUNA, Rosa Daniela | GIRARD, Daniela | VLADIMIRSKY, Sara | PÉREZ, Celeste | TOUS, Mónica

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Los cultivos celulares son utilizados en diferentes áreas de la Microbiología. Se debe asegurar la calidad de los mismos para garantizar resultados confiables. El suero fetal bovino (SFB) es un componente esencial en los medios de cultivo. Las líneas celulares difieren en sus requerimientos, un lote de suero que funciona bien para una, puede no cumplir con las necesidades de otra. El SFB certificado EEUU (SI) fue empleado desde hace 20 años en nuestro servicio por su consistencia lote a lote y porque cumple los requerimientos de procedimientos operativos internacionales, como los del Laboratorio Regional de Referencia para Poliovirus (LRRP). Múltiples factores pueden afectar la sensibilidad de una línea celular a la infección viral, como contaminaciones (cruzadas, hongos, bacterias, virus, micoplasmas), la calidad del medio de cultivo (suero, medios, agua, aditivos) y condiciones de crecimiento. En el último año, por inconvenientes en la adquisición del SI, se sustituyó por SFB nacional (SN).El objetivo de este trabajo fue evaluar SN en comparación con SI en dos líneas celulares, determinando el rendimiento celular, cambios morfológicos y sensibilidad a la infección viral según los requisitos de LRRP.

Materiales y Métodos: Se utilizaron las líneas celulares RD (Rabdomiosarcoma humano) y L20B (Tejido conectivo de ratón) provistas por el CDC para el Programa de erradicación de poliovirus. Se propagaron en frascos de 75 cm^2 con Medio con aminoácidos no esenciales (MEM) adicionado con 10%SFB SI o SN para cada ensayo, se incubaron a 37ºC y 5% CO2. Los lotes de trabajo del Banco de células, criopreservados con SI, se descongelaron y subcultivaron durante 15 pasajes con cada uno de los medios. El control de calidad de las líneas celulares incluyó verificación de identidad por amplificación de COI, ausencia de contaminaciones por observación microscópica y PCR para micoplasmas. El control morfológico se realizó por microscopia óptica con contraste de fase y registro fotográfico, y el rendimiento celular de cada repique por recuento en hemocitómetro. El LRRP determinó la sensibilidad mediante titulación de cepas de referencia de poliovirus Sabin 1 y 3 por DICT50.

Resultados: Se verificó la identidad de ambas líneas y ausencia de contaminaciones. No se evidenciaron alteraciones morfológicas ni citotoxicidad. El recuento celular (cel x 10^7/frasco) promedio con SI fue 2.62 en RD y 2.63 en L20B, y con SN disminuyó (cel x 10^7/frasco, IC 95%, p -t test):0.31, 0.26-0.35, 0.000 en RD y 0.46, 0.39-0.53, 0.000 en L20B. La sensibilidad obtenida para Sabin 1 y Sabin 3 se mantuvo dentro del rango establecido.

Conclusiones: SN posee menor capacidad de promoción de crecimiento; sin embargo, esto no afecta los otros parámetros de calidad evaluados, ni la sensibilidad de las líneas celulares utilizadas. Por lo tanto, cumple con los requisitos para ser utilizado en nuestro laboratorio y para los ensayos de aislamiento viral del LRRP.

MI 072

0827 - EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DE PRESERVACIÓN DE CORTO PLAZO PARA ESPECIES BACTERIANAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA

MARTÍNEZ, Claudia | DANGIOLO, Gastón | POLITO, María Laura | PRIETO, Monica Alejandra

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Los cultivos de referencia son utilizados en un amplio número de determinaciones. Las bacterias tienen una tendencia inherente a mutar en sucesivos cultivos, por lo tanto, es muy importante mantenerlas viables y genéticamente estables. La criopreservación a temperaturas ultrabajas es un método de referencia universal para la preservación a largo plazo de cultivos bacterianos. Requiere de equipamiento costoso, como ultrafreezers que alcancen temperaturas menores a -70°C o tanques con nitrógeno líquido. Objetivo: Evaluar la eficiencia de tres métodos de criopreservación en freezer de refrigerador doméstico.

Materiales y Métodos: Las especies seleccionadas fueron: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Haemophilus influenzae* (Hi), *Streptococcus pneumoniae* (Spn), *Streptococcus pyogenes* (Sp), *Burkholderia complejo cepacia* (Bc), *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), *Staphylococcus aureus* (Sa) y *Nocardia cyriacigeorgica* (Nc). El cultivo para preservar fue realizado en placas de agar tripticasa soja con 5% de sangre ovina. Para Hi se utilizó agar chocolate con 10% de sangre de caballo. Las condiciones de incubación fueron las descriptas como óptimas para cada especie. La temperatura de preservación ensayada correspondió al rango de temperatura que alcanza el freezer de un refrigerador doméstico con sus respectivas fluctuaciones. Para cada especie se produjo un lote de 12 unidades por cada método ensayado. Los métodos evaluados fueron: Suspensión de un cultivo en placa de 18-24hs en criotubo de polipropileno con 1 ml de caldo tripticasa soja con 10% de glicerol (A), hisopado de un cultivo confluente de 18-24hs en placa con hisopo de algodón y preservación en tubo estéril seco (B) y la escisión de un trozo de agar de la zona de desarrollo confluente de un cultivo en placa de 18-24hs (C). Los controles de viabilidad, pureza e identidad fueron realizados semanalmente durante 3 meses.

Resultados: Todos los aislamientos se recuperaron como cultivos puros. El método A permitió mantener la viabilidad de Spn por 5 semanas, de 8 semanas para Aa y Hi, y mantuvo viables el resto de las especies durante 12 semanas. El método B resultó muy eficiente. Mantuvo la viabilidad de todas las especies durante 12 semanas. Sólo Spn mostró un comportamiento heterogéneo en el lote preparado ya que los hisopos evaluados en la semana 5 y 6 no fueron revividos, sin embargo, los hisopos evaluados en las semanas 8 a 12 fueron revividos fácilmente. El método C permitió mantener viable por 3 semanas los cultivos de Spn, Pa y Bc, por 6 semanas a Hi y Aa y mantuvo la viabilidad del resto de las especies durante 12 semanas.

Conclusiones: El método B es un método de muy bajo costo que puede ser implementado por cualquier laboratorio de bacteriología y permite asegurar la viabilidad de especies muy fastidiosas (Aa, Spn, Hi), durante 3 meses. De esta forma, se disminuye la frecuencia de subcultivo y la probabilidad de ocurrencia de mutaciones.

CAM - Micobacterias

MI 073

0084 - PILOTO DEL NUEVO MODELO DE CONTROL DE CALIDAD EN LA RED DE LABORATORIOS DE BACILOSCOPIA DE TUBERCULOSIS EN MÉXICO

FLORES MARROQUIN, Carolina | **ZUÑIGA SOLANA, Gabriel** | GONZALEZ CASTILLO, Brenda | BÄCKER, Claudia

INSTITUTO DE DIAGNOSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLOGICOS

Introducción y Objetivos: En algunos países se sigue utilizando la baciloscopia como primera técnica de diagnóstico de tuberculosis, debido a la falta de recursos económicos. El control de calidad de la baciloscopia le da confiabilidad a los resultados emitidos por los laboratorios a los pacientes. En México, la Red de laboratorios de baciloscopia esta compuesta por alrededor de 730 laboratorios, a los cuales los Laboratorios Estatales de Salud Pública (LESP ,laboratorios intermedios), les realizar relectura de un número de laminillas de su rutina (100% de positivas y 10% de negativas cada mes). Posteriormente, el LESP envía un porcentaje al laboratorio de referencia nacional (LRN, laboratorio central) de micobacterias. De igual manera, el LRN aplica a todos los microscopistas (alrededor de 1200 analistas) un panel cada 2 años. La forma en que se realiza el control de calidad a la Red representa una carga de trabajo para los supervisores. Expertos en control de calidad de relectura (2002) establecieron un método estadístico para escoger las laminillas que se solicitan a los laboratorios de acuerdo a su productividad, lo que reduce en gran medida la cantidad de laminillas a examinar. El objetivo fue aplicar un piloto de nuevo modelo de acuerdo a productividad con la finalidad e reducir la carga de trabajo.

Materiales y Métodos: Se escogieron 4 estados de México, 3 estados con laboratorios de alta y baja productividad, y el cuarto con solo laboratorios de baja productividad. El LRN de micobacterias, elaboro los planes para controlar a los laboratorios (clasificando en laboratorios de alta productividad y baja). El piloto inicio en el segundo semestre de 2018, con lo cual en los 4 estados solo se analizaron con relectura de laminillas de 3 trimestres de los laboratorios de alta productividad, y en laboratorios de baja productividad solo se reviso para relectura solo 1 mes y se les aplico panel. El LRN solicito a los LESP que le enviaran copia del informe de la supervisión y de la bitácora, para realizar el seguimiento de la realización del control de calidad.

Resultados: De 176 laboratorios que participaron en el piloto solo 7.4% fueron de alta productividad. Analizando la cantidad de laminillas releídas en 2016 y 2017, con lo las que se leyeron en 2018 (aplicación de piloto) se redujo hasta a la mitad la cantidad de laminillas releídas para 3 estados, mientras que en el cuarto se aumento. En el caso de los falsos (negativos y positivos) se mantuvo la proporción de éstos. En la parte de documentación existen puntos para mejorar (bitácoras e informes de supervisiones realizadas).

Conclusiones: Al final de la aplicación del piloto se comprobó la utilidad del modelo de control de calidad reduciendo el trabajo de los supervisores, así será posible mejorar los tiempos de entrega de las supervisiones. El modelo permite hacer una relectura más representativa (más confiable y con mayor azar).

MI 074

0147 - ROL DE LA RESPUESTA TH22 EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR ACTIVA

IMPERIALE, Belén Rocío [1] | GARCÍA, Ana[2] | GRAMBLICKA, Georgina[3] | MATTEO, Mario[4] | MORACHO, Lucila[2] | GONZÁLEZ MONTANER, Pablo[4] | PALMERO, Domingo[4] | MORCILLO, Nora[3] | SASIAIN, María Del Carmen[1] | DE LA BARRERA, Silvia[1]

INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL CONICET - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA [1]; HOSPITAL MUÑIZ [2]; HOSPITAL DR. ANTONIO A. CETRÁNGOLO [3]; HOSPITAL MUÑIZ E INSTITUTO VACCAREZZA, FACULTAD DE MEDICINA, UBA [4]

Introducción y Objetivos: La Tuberculosis (TB) es una de las principales enfermedades infecciosas que afecta al ser humano. Si bien los Linfocitos T helper (TH)-1 y la producción de IFN-g son esenciales para controlar la infección por *M. tuberculosis* (Mtb), otras poblaciones linfocitarias participarían en dicha respuesta. La interleuquina (IL)-22 actúa sobre las mucosas promoviendo la reparación tisular o procesos inflamatorios. En TB se ha descripto que los LT CD4+, pueden evolucionar a células efectoras con IL-22 unida a membrana (IL-22Mb) que inhiben la replicación intracelular de Mtb en macrófagos y disminuyen luego del tratamiento anti-TB específico. Por otro lado, se demostró que la variabilidad genética de Mtb influencia las respuestas inmunes efectoras en células mononucleares humanas (CM). Por lo tanto, el objetivo del estudio fue explorar la respuesta TH22 en pacientes con TB y establecer si ésta es modulada por distintos genotipos de Mtb multidrogo-resistentes (MDR) prevalentes en Argentina.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 91 muestras de sangre periférica (SP), 28 de pacientes con TB sensible a las drogas (S-TB), 43 de MDR y 20 de dadores sanos (DS). Se recolectaron datos epidemiológicos y bacteriológicos de los pacientes. A partir de la SP se separó el plasma y se aislaron las CM, las cuales fueron cultivadas durante 5 días, solas o con las cepas irradiadas H37Rv y MDRs (Ra: LAM3 y M: H2). A partir del

plasma y del sobrenadante del cultivo se determinó la secreción de IL-22 por ELISA, y a partir de las CM se determinó, en LT CD4+ y CD8+, por citometría de flujo: a) la expresión intracelular (ic) de IL-17 e IL-22; b) los niveles de IL-22Mb; c) las poblaciones de LT senescentes (CD57+, PD1+). Para el análisis estadístico se empleó GraphPad Prism 5.0.

Resultados: La expresión de IL-22ic y de IL-22ic-L17ic fue mayor en pacientes con S-TB que en MDR-TB y DS ($p<0.05$), el porcentaje de IL-22Mb en TB también fue mayor que en DS, y no se obtuvo diferencia en la expresión de IL-22ic e IL-22Mb. Además, las cepas de Mtb no mostraron una modulación diferencial de la respuesta TH22. Los niveles plasmáticos de IL-22 de pacientes con TB fueron menores que los de los DS. En los pacientes MDR se observó que a mayor carga bacilar y gravedad de la lesión, menor fue el porcentaje de expresión de IL-22ic de los LT CD4+ y CD8+, y de secreción de IL-22 ($p<0.05$) de las CM estimuladas con las distintas cepas. Además, se obtuvieron altos niveles de expresión de CD57+ y PD1+.

Conclusiones: En pacientes con TB, los resultados obtenidos sugerirían un mayor flujo de IL-22 desde SP hacia la lesión con fines regenerativos. En pacientes MDR, la menor expresión de IL-22 cuanto mayor fue la gravedad de la enfermedad, podría reflejar un déficit en la habilidad del huésped para reducir la carga bacteriana y montar mecanismos de reparación tisular. Paralelamente, el hecho que en MDR detectamos menor secreción de IL-22 y un aumento de marcadores de senescencia en LT indicaría un agotamiento de la respuesta específica.

MI 075

0191 - SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS MÉTODOS DE NGS PARA LA DETECCIÓN DE RESISTENCIA EN CEPAS XDR RESISTENTES DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* CIRCULANTES EN ARGENTINA

SOSA, Ezequiel Jorge [1] | MONTESERIN, Johana[2] | FERNÁNDEZ DO PORTO, Dario[1] | FERNÁNDEZ BENEVENTO, Andrés[1] | MATTEO, Mario[2] | YOKOBORI, Kaoru[2] | POKLEPOVICH, Tomas[2] | WAINMAYER, Ingrid[2] | CAMPOS, Josefina[2] | SIMBOLI, Norberto[2] | RITTACO, Viviana[2] | TURJANSKI, Adrian[1]

IQUIBICEN [1]; INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [2]

Introducción y Objetivos: Las infecciones con *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), suelen tratarse y resolverse con una terapia estándar de al menos 3 antibióticos diferentes durante 6-9 meses, se estima que aproximadamente un 40% de los casos de tuberculosis no son diagnosticados y tratados de manera correcta. En particular aquellas cepas extremadamente resistentes (XDR) -que presentan resistencia a rifampicina (RIF), isoniazida (ISO), un antibiótico inyectable de segunda línea y una fluoroquinolona (FQL)- son un problema serio para los sistemas de salud a nivel global. Argentina no está exenta de la aparición de TB-XDR, se han reportado varios casos y evaluado terapias alternativas para su tratamiento. Con el objetivo de estudiar la correlación entre las pruebas fenotípicas de sensibilidad de las drogas anti-TB y la predicción genotípica mediante Next Generation Sequencing (NGS) a nivel local, se secuenciaron y analizaron aislamientos clínicos de TB-XDR, obtenidos en Argentina entre los años 2003-2015.

Materiales y Métodos: Para cumplir con el objetivo planteado, se realizó la secuenciación genómica masiva a 48 aislamientos clínicos de TB-XDR. Las pruebas fenotípicas de sensibilidad a drogas se realizaron por el método de las proporciones. Brevemente, se realizó el mapeo contra la cepa de referencia H37Rv con BWA, el llamado de variantes con GATK y la anotación de variantes con SnpEff. Para determinar las mutaciones que confieren resistencia a drogas los SNPs obtenidos fueron comparados con bases de datos de resistencia como TBProfiler, CARD y datos bibliográficos. Se analizó la sensibilidad y especificidad de la predicción genómica de la resistencia para las siguientes drogas RIF, ISO, Etambutol (EMB), Kanamicina (KAN), Estreptomicina (STR), Amikacina (AMI), Capreomicina (CAP) y FQL, utilizando como *gold standard* el método fenotípico. Por último, para ubicar en contexto filogenético global las cepas XDR circulantes se construyó un árbol filogenético (maximum likelihood) con RAxML.

Resultados: La predicción genómica de la resistencia mostró una sensibilidad > al 90% para STR, RIF, ISO y > al 80% para amikacina, CAP, KAN y FQL. Una sensibilidad inferior se obtuvo para EMB (76%) debido, probablemente, a la complejidad de los mecanismos moleculares que subyacen al resistencia de esta droga (las mutaciones en *embB* son el mecanismo más comúnmente reportado, que no están necesariamente involucradas en la resistencia pero predisponen a los aislamientos a desarrollarla). En cuanto a la especificidad, no se pudo probar para ISO y RIF por tratarse de cepas XDR. Por otro lado CAP, KAN y FQL obtuvieron valores de especificidad por encima del 75%. Finalmente para AMI, STR y EMB la misma está por debajo del 40%.

Conclusiones: Nuestros resultados muestran que existe una importante correlación entre los métodos genotípicos y fenotípicos para ISO, RIF, CAP y FQL. Por último, nuevos estudios se requieren para aumentar la especificidad de AMI, STR y EMB.

MI 076

0279 - PATRONES DE RESISTENCIA A FÁRMACOS ANTITUBERCULOSOS DE PRIMERA Y SEGUNDA LÍNEA EN AISLADOS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* OBTENIDOS DURANTE EL PERÍODO DEL 2008-2018 EN MÉXICO

MARTÍNEZ-GUARNEROS, José Armando | VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, David | VÁZQUEZ-CHACON, Carlos Arturo | ESPEGEL, Gabriela | BÄCKER, Claudia

INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS

Introducción y Objetivos: La tuberculosis (TB) multi-resistente (MDR) causada por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* que son resistentes al menos a los fármacos Isoniacida (H) y Rifampicina (R) de manera simultánea y extremadamente-resistente (XDR) cepas TBMDR más resistencia a un FQ y al menos un agente inyectable de segunda línea: amikacina (Am), kanamicina (Km) y / o capriomicina (Cm); representan un problema de salud pública mundial en el control de la TB, la OMS estimo en el 2017 cerca de 558, 000 casos nuevos de TB con resistencia a la R, que es el fármaco con más eficacia en el tratamiento de la TB; 82% de los casos fueron MDR y de estos un 9,7% se definen como XDR a nivel mundial. Determinar la prevalencia de la resistencia a los fármacos antituberculosos de primera y segunda línea en aislados de *Mycobacterium tuberculosis* obtenidos durante el período del 2008-2018 en México

Materiales y Métodos: Estudio retrospectivo con un total de 1434 aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* enviados la Laboratorio Supranacional de TB (InDRE) en México por la Red de Laboratorios Estatales de Salud Pública de México durante los años 2008-2018. El Perfil de las pruebas de fármaco sensibilidad (PFS) a fármacos de primera línea: Isoniacida (H), Rifampicina (R), Etambutol (E) y Pirazinamida (Z), fue realizada por el método de las proporciones en medio líquido MGIT960®. Las PFS de segunda línea (2L) para inyectables (SLI) (Kanamicina-Km, Amikacina-Am y Capriomicina-Cm) y fluoroquinolonas (FQ) ofloxacina-Ofx y levofloxacina-Lfx de segunda línea fueron evaluados por el método de las proporciones modificado de Canetti en el medio agar de Middlebrook 7H10.

Resultados: Las PFS de primera línea mostró que el 23.6% de los aislados fueron resistentes a cualquiera de los siguientes fármacos: H, R, S, E y Z. El 26.5% de todos los aislados fueron resistentes a H o R (pero no a ambos). Las cepas (MDR) se identificaron en el 70,5 % de todos los aislados. Entre los aislados TB-MDR, el 18,6% fueron resistentes a FQ o SLI, pero no a ambos. El porcentaje de resistencia para SLI: 10% a km, 8.3% a Am y 5.5% a Cm; para FQ: 18.4% para Ofx y 2.3% para Lfx y 9.2% fueron XDR. El porcentaje más frecuente de resistencia para los fármacos de 2L para los aislados correspondió a Ofx 18.4%, y 10% a km. En todos los casos encontramos 6,5% (N = 67) aislados XDR. La comorbilidad con la Diabetes-Mellitus tipo II fue del 27%; COMBE + 7.2% y VIH 5.3%.

Conclusiones: Estos resultados muestran la necesidad de implementar mejores estrategias terapéuticas y el monitoreo urgente de los pacientes con TB resistente a los medicamentos, TB-MDR y TB-XDR, especialmente para los pacientes con la resistencia a FQs, y la comorbilidad Diabetes-Mellitus tipo II, para prevenir resistencia a las drogas y desarrollar mejores estrategias de prevención y control de la TB, así como la implementación tratamientos efectivos que permitan cortar la cadena de transmisión en la población vulnerable de adquirir TB en México.

MI 077

0472 - ESTATUS DE LA LEPRA EN FORMOSA, UNA PROVINCIA ENDÉMICA DEL NOROESTE ARGENTINO

ARNAIZ, María Rosa [1] | IGLESIAS, Mónica[2] | ARZAMENDIA, Lucia[3] | FRANCO, José Ismael[4] | SANTINI, María Soledad[5] | RECALDE, Hugo Cesar[3]

CENTRO DE DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN EN ENDEMO-EPIDEMIAS, CENDIE [1]; DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD Y BIOLOGÍA EXPERIMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES. UBA [2]; PROGRAMA DE CONTROL DE LEISHMANIASIS Y LEPRA [3]; PROGRAMA DE CONTROL DE LEISHMANIASIS Y LEPRA [4]; CENTRO DE DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN EN ENDEMO-EPIDEMIAS, CENDIE [5]

Introducción y Objetivos: La lepra es una enfermedad infecto-contagiosa crónica causada por el Mycobcterium leprae. De los 24 países que reportan casos de lepra en América Latina y el Caribe, todos excepto Brasil, alcanzaron la meta de <1 caso/100.000 habitantes desde el 2006. La República Argentina es un país con alta carga para lepra porque notifica >100 nuevos casos/año y tiene un alto porcentaje de formas clínicas graves multibacilares (MB) y discapacidad grado 2 (DG2). El objetivo fue determinar la dinámica de los Indicadores Epidemiológicos de la Lepra en Formosa en la serie temporal 2002-2016. Para ello, investigamos la tendencia de las tasas de detección de nuevos casos (TDNC) en: a) en toda la provincia y en cada uno de los 9 Departamentos (Dptos), b) por grupos atareos y c) por sexo, así como las proyecciones de las TDNC hacia el 2022. La localización geográfica y por eco-regiones de los NCL se determinó para conocer la distribución ambiental de la enfermedad.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 713 NCL entre 2002-2016. A partir de TDNC, la tendencia de toda la provincia se calculó utilizando un modelo lineal dinámico con una tendencia lineal local utilizando un algoritmo MCMC. Dos modelos de regresión lineal de efectos mixtos para análisis longitudinales por niveles de departamentos/sexos. Los grupos de edad se compararon mediante la prueba de Friedman y posteriormente, la prueba de a pares de Wilcoxon. La prueba de tendencia de Mann-Kendall para cada grupo de edad y región geográfica. Las diferencias entre la Formosa húmeda (HF) y la Formosa seca (DF) se calcularon mediante las pruebas Wilcoxon y de permutación de Monte-Carlo.

Resultados: Geográficamente los NCL se distribuyeron siguiendo el trayecto de las rutas nacionales y el número fue significativamente mas alto en el HF que en DF (MW=10.48, ME= 8.60, p<0.05). La TDNC disminuyó significativamente de 13,3 en el 2002 a 6,11/10.000 hab en 2016, sin embargo, las proyecciones evidenciaron que la lepra no se eliminará en el 2022 [TD22 = 3.64, IC: 95%, [1.22-10.25]. En la serie temporal, los hombres (TDH) predominaron sobre las mujeres (TDM) [TDHH: 12.17, TDMM: 6.86, p <0.05] aunque tienen la misma tasa de descenso (TDesNC) [IC: 95%, -0.64- -0.46]. Se encontraron diferencias entre las TD de grupos etarios (TD0-14 = 0.20, TD15-44 = 8.17, TD45-64 = 21.04, TD+ 65 = 29.49, p <0.05) con una tendencia decreciente en el tiempo (S15-44 = -103, S45-64 = -81, Splus65 = -61, p <0.05) excepto en el grupo de edad 0-14 (S = -3, p> 0.05) donde no se reveló tendencia alguna. Los Dptos de Bermejo [TDesNC02-16: -1.02, CI: 95%, -1.42, -0.66] y Matacos [TDdesNC02-16: -0.71, CI: 95%, -1.01--0.43] tuvieron la TDesNC más alta y Patiño [TDdes02-16: -0.45, IC: 95%, -0.74- -0.11] la tendencia decreciente más baja

Conclusiones: La lepra es una enfermedad distribuida en toda la provincia de Formosa, con predominio en la región húmeda, con una tendencia decreciente en la provincia en general y en cada uno de los Departamentos. Los hombres son los más afectados y las tasas de detección aumentan con la edad. Nuestros estudios revelan que, a pesar de la tendencia decreciente de las TDNC, hacia el año 2022 la lepra no estará erradicada de la provincia de Formosa.

MI 078

0644 - HISTORIA EVOLUTIVA DE HBHA COMO FACTOR DE VIRULENCIA EN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

LANFRANCONI, Mariana Patricia [1] | ARABOLAZA, Ana[2] | GRAMAJO, Hugo[2] | ALVAREZ, Héctor Manuel[1]

INSTITUTO DE BIOCIENCIAS DE LA PATAGONIA (INBIOP), UNPSJB, CONICET. [1]; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO [2]

Introducción y Objetivos: HBHA es una hemaglutinina de superficie que se une a heparina y media la adherencia de Mycobacterium tuberculosis a células epiteliales y macrófagos facilitando la diseminación extrapulmonar. Además de encontrarse en este patógeno de relevancia mundial, HBHA se ha detectado en otras especies tanto saprófitas como patógenas del género *Mycobacterium.* El gen ortólogo a *hbha* en *Rhodococcus* se denomina *tadA* y codifica para una proteína estructural de las inclusiones lipídicas en este género paradigma de la oleagenicidad. Si bien se diferencian a nivel de localización y función, el contexto génico es similar; y tanto hbha como tadA están flanqueados por un regulador transcripcional (TR) y una proteína de membrana (MP). El grado de sintenia conservado entre ambas actinobacterias pone en evidencia un origen evolutivo común para TadA y HBHA. El objetivo de este trabajo fue presentar un escenario evolutivo que explique cómo HBHA fue cooptado como factor de virulencia fundamental para *Mycobacterium tuberculosis*.

Materiales y Métodos: Para estudiar en profundidad el cluster génico TR-HBHA-MP en actinobacterias y en particular entre especies de *Mycobacterium,* se analizaron los genomas bacterianos de cada especie mediante el uso de herramientas bioinformáticas (BLAST, SoftBerry). Para determinar si HBHA conservó a lo largo de su evolución su capacidad de unirse a inclusiones lipídicas, se estudió su localización mediante la expresión heteróloga de la fusión $HBHA_{Mtb}$GFP en *Rhodococcus opacus* PD630 y su análisis por microscopía confocal.

Resultados: El estudio bioinformático comparativo permitió detectar variabilidad en la longitud de la región intergénica entre TR y HBHA en diferentes especies del género *Mycobacterium*. Esta región es más larga en micobacterias patógenas, salvo M. abscessus que divergió tempranamente en la evolución del género, mientras que tiene menor longitud en mycobacterias saprófitas y en *Rhodococcus*, donde estos dos genes contiguos se solapan. Además de la mayor extensión de la región intergénica, se detectaron diferentes regiones promotoras río arriba de HBHA que controlan su expresión. Las mismas solo se encontraron en patógenos tales como *Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium canettii* y *Mycobacterium bovis*. La expresión heteróloga de HBHA en Rhodococcus opacus PD630 permitió demostrar que HBHA colocaliza con las inclusiones lipídicas al analizar las células teñidas con Rojo Nilo que expresaban la fusión $HBHA_{Mtb}$GFP por microscopía confocal. Este resultado se observó tanto en condiciones que estimulan el crecimiento como en aquellas que promueven la acumulación de lípidos neutros.

Conclusiones: El conjunto de resultados obtenidos sugiere que, si bien HBHA fue cooptada para desarrollar una función que favorezca el proceso infectivo en algunas micobacterias patógenas, no habría perdido su capacidad ancestral de unirse a inclusiones lipídicas. Por último, se propone que la regulación diferencial de HBHA, así como variaciones en su secuencia aminoacídica explicarían las diferencias funcionales y espacio-temporales de este factor de virulencia.

CAM - Micología clínica

MI 079

0270 - PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA MOLECULAR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES DE RESISTENCIA A EQUINOCANDINAS EN LEVADURAS DEL COMPLEJO *CANDIDA PARAPSILOSIS*

KLEKAILO, Katya María Irina [1] | SCROMEDA, Gabriela Yanina[1] | VERA, Mariana Belén[1] | VELÁZQUEZ, Ernesto[1] | VEDOYA, María Celina[1] | SALVATIERRA, Karina Alejandra[2]

LAB. DE MICOLOGÍA. FACULTAD DE CS. EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES. UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES. [1]; GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA APLICADA (GIGA)-IBS-CONICET, UNAM. [2]

Introducción y Objetivos: Durante las últimas décadas el incremento de las candidiasis invasoras ha sido constante, convirtiéndose en un importante problema de salud pública. El complejo *Candida parapsilosis* ha emergido como uno de los principales agentes causales de candidiasis invasoras. Este complejo incluye tres especies: *Candida parapsilosis* sensu stricto (s.s.), *Candida orthopsilosis* y *Candida metapsilosis*, con diferencias importantes en cuanto a virulencia y susceptibilidad antifúngica. Las equinocandinas son un grupo de antifúngicos muy utilizados en el tratamiento de las candidiasis, que actúan inhibiendo el complejo enzimático ß-(1,3)-D-glucano sintetasa (GS); esto conlleva a una depleción de ß-(1,3)-D-glucano en la pared celular, una inestabilidad osmótica y finalmente la lisis y la muerte celular. La aparición de resistencias a los antifúngicos puede ser debida a mutaciones, o una sobreexpresión de los genes (FKS) que codifican la fracción catalítica del complejo GS. El objetivo de este trabajo fue poner a punto el protocolo de PCR para la amplificación de las regiones HS1 y HS2 de los genes FKS1 y FKS2 en especies del complejo *C. parapsilosis*, para posteriormente realizar la identificación de mutaciones de resistencia a equinocandinas.

Materiales y Métodos: Se trabajó con cepas de *C. parapsilosis* s.s. y *C. metapsilosis* aisladas de muestras clínicas e identificadas como tales por técnicas de biología molecular, pertenecientes al cepario de la Cátedra de Micología de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones. Se realizó la extracción del material genético siguiendo un protocolo previamente estandarizado, y se ensayaron distintas condiciones experimentales para la amplificación de las regiones HS1 y HS2 de los genes FKS1 y FKS2. Los amplicones se verificaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 %, teñidos con bromuro de etidio.

Resultados: Fue posible estandarizar las condiciones para la amplificación por PCR, siendo necesario utilizar las siguientes temperaturas de hibridación: 58 °C para la región HS1 del gen FKS1, 51 °C para la región HS1 del gen FKS2 y 55 °C para la región HS2 tanto del gen FKS1 como del gen FKS2.

Conclusiones: Se logró la estandarización de un método sencillo y rápido para la amplificación de las regiones HS1 y HS2 de los genes FKS1 y FKS2, para una posterior identificación de mutaciones de resistencia a equinocandinas. Esto permitiría aportar nuevos datos que contribuyan a esclarecer los mecanismos de patogenicidad y posibiliten la instauración de un tratamiento específico para un correcto abordaje terapéutico.

MI 080

0276 - ENDOCARDITIS POR HISTOPLASMA CAPSULATUM EN PACIENTE CON TRASPLANTE RENAL EN TRATAMIENTO CON ITRACONAZOL POR HISTOPLASMOSIS DISEMINADA

HERRERA, Fabián[1] | **RELLOSO, Silvia** [1] | MUJICA, Maria Teresa[2] | GARCIA, Alejandro[1] | TEMPORITI, Elena[1] | GODIA, José[1] | BONVEHÍ, Pablo[1]

CEMIC [1]; DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA E INMUNOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA, UBA [2]

Introducción: La endocarditis infecciosa es una manifestación rara de histoplasmosis diseminada, aún en pacientes inmunosuprimidos. Se presenta con una mediana de diagnóstico desde el inicio de los síntomas de entre 7 semanas a 6 meses y en los hemocultivos se obtiene desarrollo en menos de la mitad de los casos. La mayoría de los pacientes requiere reemplazo valvular. Para nuestro conocimiento no hay casos publicados de endocarditis por H. capsulatum en pacientes con trasplante renal.

Caso Clínico: Paciente de 66 años en tratamiento con metil-predinisona y micofenolato por trasplante renal 24 años previos al diagnóstico de histoplasmosis diseminada, manifestada por síntomas constitucionales, fiebre intermitente, pancitopenia y úlceras en paladar. En las muestras de escarificación de las úlceras se observaron elementos levaduriformes intracelulares compatibles con H. capsulatum, que no desarrollaron en medios de cultivo, ni en los hemocultivos por lisis-centrifugación. Inició tratamiento con AmBLiposomal, que debió

suspenderse por efecto adverso severo y continuó con itraconazol con resolución del cuadro clínico dentro de los 2 meses. Se monitorearon regularmente los niveles plasmáticos de itraconazol, encontrándose los mismos por arriba de 1000 ng/ml. Luego de 8 meses de tratamiento, comienza con cuadro de diarrea crónica y coincidentemente, niveles de itraconazol < a 300 ng/ml. Además presenta disnea y edemas en miembros inferiores, hallazgos coincidentes con insuficiencia cardíaca. En el ecocardiograma transesofágico se observa vegetación en válvula aórtica de 1,6 por 0,38 cm, con perforación de dicha válvula e insuficiencia aórtica severa. Nunca presentó fiebre, y tenía una VSG de 5 mm y una PCR de 0,47. No se obtuvo desarrollo bacteriano ni fúngico en los hemocultivos automatizados y por lisis-centrifugación. Se realizó cirugía de reemplazo valvular aórtico con válvula mecánica, e inició tratamiento ATB y AmB complejo lipídico. La tinción de Giemsa del tejido valvular mostró abundantes levaduras con tinción en casquete, acompañadas de hifas cortas. Se realiza una PCR anidada amplificando una región interior del gen de 210 pb que confirmó la presencia de ADN de H. capsulatum. En la anatomía patológica del tejido valvular se observó infiltrado inflamatorio histiocitario y levaduras intracitoplasmáticas en la tinción de Grocott. En el cultivo se obtuvo desarrollo de H. capsulatum. Completó 6 semanas de tratamiento con AmB complejo lipídico y luego 1 año con itraconazol sin recurrencias luego de 4 años de seguimiento.

Conclusiones: Resulta importante descartar el diagnóstico de endocarditis por H. capsulatum en pacientes con histoplasmosis diseminada que presenten signos de disfunción valvular, independientemente del tiempo de tratamiento antifúngico o la ausencia de signos de infección activa.

MI 081

0333 - EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE CALIDAD EN MICOLOGÍA EN EL PERÍODO 1996-2018

MAZZA, Mariana | DAVEL, Graciela Odelsia | REFOJO, Nicolás | BUENO, Nadia Soledad | TAVERNA, Constanza Giselle | CANTEROS, Cristina Elena | CORDOBA, Susana | RIVAS, María Cristina | LPNCCM, Grupo

DEPARTAMENTO MICOLOGÍA, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS "DR. C. G. MALBRÁN", ANLIS

Introducción y Objetivos: Existen cada vez más exigencias para que las instituciones implementen sistemas de gestión de calidad con el fin de asegurar la provisión de diagnósticos de alta calidad. Una de las actividades necesarias para su implementación es la participación en programas de evaluaciones de calidad. En 1996, se creó el Programa Nacional de Control de Calidad en Micología (PNCCM) de Argentina cuyo objetivo es mejorar la calidad del diagnóstico micológico, colaborar en el establecimiento de procedimientos estandarizados en aquellos laboratorios que carecen de ellos y contribuir a la capacitación continua del personal. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad del PNCCM en el período 1996-2018.

Materiales y Métodos: Para medir la efectividad del PNCCM se crearon 5 indicadores: 1- Número de los laboratorios controlados desde el inicio del PNCCM, 2- Porcentaje de participación en el PNCCM: Comparación del porcentaje de laboratorios que responden la encuesta solicitada, 3- Mejora de la calidad de los resultados de los laboratorios: Comparación del porcentaje de respuestas correctas de acuerdo al nivel de dificultad de las muestras en dos períodos diferentes, Inicial (1996 a 2003) y Final (2012 a 2018). 4- Adhesión de los usuarios: Porcentaje de laboratorios que participan actualmente/laboratorios inscriptos desde 1996, 5- Grado de satisfacción de los usuarios: se midió a través de encuestas de satisfacción enviadas a los laboratorios en el período 2006-2018.

Resultados: En marzo de 1996, 59 laboratorios se inscribieron en la primera encuesta del PNCCM y 29 respondieron en la fecha límite especificada. En agosto de 2018, se inscribieron 157 laboratorios y respondieron 146. El porcentaje de participación aumentó de 49% en 1996 a 93% en 2018. La mejora general de la calidad de los resultados de los laboratorios fue del 15% para muestras de baja complejidad, 7% para muestras de complejidad intermedia y 14% de mejora en la identificación de cepas de nivel 3. No se observó mejora en los resultados de las técnicas serológicas. La adherencia general de los participantes fue del 72%. En el sector público, el 78% de los laboratorios permanecieron en el programa, mientras que la adherencia del ámbito privado fue del 52%. Las consultas de satisfacción realizadas en 2006, 2008, 2012, 2017 y 2018 fueron respondidas por el 26% de los laboratorios. El 84% considera que el PNCCM es muy bueno y el 16% que es satisfactorio.

Conclusiones: La importancia del PNCCM es ampliamente valorada por los laboratorios que realizan diagnóstico micológico en nuestro país, que se evidencia por el interés creciente que han mostrado los profesionales en este programa desde su creación. El incremento y participación de los usuarios en todas las jurisdicciones del país indican el grado de aceptación del PNCCM. La mejora de la calidad de los resultados, la adherencia y la satisfacción de los usuarios evidencia la utilidad y la efectividad del programa.

MI 082

0352 - TIÑA NEGRA PALMAR EN UN NIÑO DE LA CIUDAD DE ROSARIO. LA IRONÍA DE UNA MADRE MICÓLOGA

ROMERO, María Mercedes [1] | KOS, Eliana[2] | FUNES, Paula[1] | GARCÍA, Irene[1] | BLETLER, Caren[1] | ACARDI, Hugo Horacio[1] | MARTINICH, Carina[1] | MARÍ, Raquel[1] | DÍAZ, María Susana[1] | HOURQUESCOS, María Del Carmen[1] | ANCHART, Eduardo Gabriel[1] | AMIGOT, Susana[1]

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CEMAR. DIRECCIÓN BIOQUÍMICA. MUNICIPALIDAD DE ROSARIO. [1]; GRUPO OROÑO [2]

Introducción: La tiña negra es una micosis cutánea superficial asintomática causada por un hongo levaduriforme dematiáceo denominado *Hortaea werneckii*. Se caracteriza por placas hiperpigmentadas con descamación muy fina cuyo color varía desde el pardo hasta casi negro. Se localiza en la región palmar de modo unilateral y con menor frecuencia en la planta del pie u otras áreas cutáneas. Es una micosis de distribución universal, mas frecuente en climas tropical y subtropical y en zonas de playa. Predomina en el sexo femenino, se presenta en todas las edades, con mayor incidencia reportada en niños y adultos jóvenes. El mecanismo de transmisión es exógeno, por contacto directo con el agente causal, el cual puede encontrarse en restos vegetales y en particular en determinados sustratos con elevada concentración de cloruro de sodio.

Caso Clínico: Caso clínico: Paciente masculino de 6 años de edad, raza blanca, oriundo de la ciudad de Rosario, Santa Fe, sin antecedentes de viaje a zonas cálidas ni de playa durante el último año. Asiste a consulta dermatológica por presentar una mácula pigmentada, de contornos irregulares, asintomática, en la palma izquierda, de aproximadamente 6 meses de evolución. Dermatoscopía: lesión pigmentada, no melanocítica, de patrón homogéneo pardo, en la que se observan espículas pigmentadas de distribución regular. Se indica estudio micológico. En el exámen directo con KOH 20% de las escamas se observaron hifas cortas y tabicadas dematiáceas. A partir de 7 días de incubación desarrollan colonias levaduriformes negras, brillantes, y que al envejecer se tornaron aterciopeladas de color verde-grisáceo oscuro. Microscópicamente, al inicio se observan levaduras pigmentadas algunas tabicadas y luego de unas semanas hifas oscuras, gruesas, cortas, tabicadas y aneloconidios característicos que permitieron identificar este hongo como *Hortaea werneckii*. Se indica tratamiento local con clotrimazol.

Conclusiones: La tiña negra es considerada una micosis poco frecuente. No obstante, se desconoce su verdadera incidencia ya que no se reportan los casos y al ser asintomática los pacientes pueden no acudir a consulta. Sin embargo, por su aspecto clínico puede confundirse con otras entidades de mayor relevancia médica como: nevo de la unión, eritema pigmentado fijo, dermatitis neglecta, dermatitis por contacto, pigmentación por nitrato de plata, así como pigmentación secundaria de la enfermedad de Addison, sífilis secundaria; y no debe dejar de descartarse melanoma maligno acral. Se considera importante presentar este caso dada la escasa frecuencia de su diagnóstico y la ausencia de reportes en la provincia hasta la fecha; además conlleva el planteo de que, si estamos frente a un caso autóctono, ya que el niño no viajó, esto podría deberse, por un lado, a la tropicalización del clima y, por otro, al aumento de la migración de individuos desde zonas tropicales.

MI 083

0429 - ESTUDIO DE MORFOTIPOS Y VIRULENCIA DE CEPAS DEL COMPLEJO *CANDIDA PARAPSILOSIS*

PODESTA, Maria Virginia | AMIGOT, Susana | FUNES, Paula | TOSELLO, Maria Elena | BIASOLI, Marisa

CEREMIC. CÁTERA DE MICOLOGIA. FACULTAD DE CS BIOQUIMICAS Y FARMACEUTICAS. UNR

Introducción y Objetivos: Las levaduras del complejo Candida parapsilosis son, hoy en día, la segunda especie más aislada en candidiasis en países de América Latina por detrás de Candida albicans. En 2005 Tavanti propuso este complejo formado por C. parapsilosis sensu stricto, Candida metapsilosis y Candida orthopsilosis. El objetivo de este trabajo fue caracterizar morfotípicamente y conocer la virulencia de 62 cepas de levaduras pertenecientes al complejo C. parapsilosis provenientes de diversos materiales clínicos, previamente identificadas por un método de PCR-RFLP.

Materiales y Métodos: Para el estudio de morfotipos se utilizó un medio de Saboureaud suplementado con 0,1% con sales de cloruro de 2,3,5- trifeniltetrazolio descripto por Quindós. Las placas se inocularon con 10 µl de una suspensión 5 de Mc Farland de cada levadura y luego de una incubación de 6 días a 37ºC se le asignó a cada levadura un código de 3 letras y 1 número según el tipo de desarrollo. Para el estudio de virulencia se determinó la actividad fosfolipasa y proteinasa por técnicas cualitativas. Para la actividad fosfolipasa se utilizó yema de huevo como sustrato y se observó un precipitado blanco debajo y alrededor de la colonia. Para la actividad proteinasa se utilizó albúmina sérica bovina como sustrato y se observó un halo claro alrededor de la colonia. Se utilizaron las cepas de referencia: C. parapsilosis sensu stricto ATCC 22019, C. metapsilosis CCC 186-05 y C. orthopsilosis ATCC 9613 como controles.

Resultados: Se obtuvieron 6 morfotipos en distintas proporciones: RV1N: 45,6% (28/62); RV2N: 28,8% (18/62); SV1N: 19,2% (12/62); SV2N: 1,6% (1/62); SP2N: 3,2% (2/62) y NG: 1,6% (1/62). Las cepas de referencia C. parapsilosis sensu stricto y C. metapsilosis presentaron el morfotipo RV1N mientras que C. orthopsilosis SV1N. No se observaron diferencias en el morfotipo según lugar de procedencia. Las cepas de C. orthopsilosis (2/62) presentaron el mismo morfotipo que su cepa de referencia, sin embargo no fue

característico de esta especie. En las cepas de C. metapsilosis (4/62) se pudieron observar los morfotipos RV1N, SV1N y SP2N, mientras que en las cepas de C. parapsilosis sensu stricto (56/62) se encontraron los seis morfotipos. Con respecto a la virulencia, el 46,7% (29/62) presentó actividad fosfolipasa (incluidas las dos cepas de C. orthopsilosis y dos C.metapsilosis) y el 74,1% (46/62) presentaron actividad proteinasa (44 cepas de C. parapsilosis sensu stricto y 2 de C. metapsilosis).

Conclusiones: En este trabajo se encontraron 6 de los 8 morfotipos descriptos por Quindós en 1992. La presencia de actividad fosfolipasa y proteinasa no se correlacionó con ningún morfotipo en particular. No se observó diferencia en la expresión de las enzimas según el sitio de donde fueron aisladas las levaduras ni en las distintas especies del complejo. Los resultados obtenidos concuerdan con la bibliografía, donde el complejo C. parapsilosis es menos patógeno que C. albicans, la cual presenta una actividad de proteinasas y fosfolipasas del 100%.

MI 084

0496 - CONSTRUCCIÓN DE UNA LIBRERIA *IN HOUSE* PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AGENTES *ETIOLOGICOS DE ONICOMICOSIS O DERMATOFITOSIS POR ESPECTOMETRIA DE MASAS MALDI-TOF* EN UN LABORATORIO CLÍNICO EN MEDELLÍN COLOMBIA

GOMEZ, Juan [1] | LOAIZA, Natalia[2] | LIMA, Nelson[3] | MESA-ARANGO, Ana C[4]

LABORATORIO CLINICO PROLAB.S.A.S [1]; LABORATORIO CLINICO PROLAB.S.A.S [2]; UNIVERSIDADE DO MINHO, CENTRO DE ENGENHARIA BIOLÓGICA, CAMPUS DE GUALTAR [3]; GRUPO GRID, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, [4]

Introducción y Objetivos: La incidencia de las infecciones fúngicas ha incrementado significativamente en las últimas décadas debido al uso de antibióticos de amplio espectro, a la inmunosupresión y al incremento de las especies resistentes a uno o varios antifúngicos entre otros. La identificación de los hongos aislados de muestras clínicas, basada en el método fenotípico clásico tradicional, tiene limitaciones, en parte por la similitud entre algunas especies o por la ausencia de estructuras que permitan la identificación. La secuenciación, de una o varias dianas, es la mejor alternativa para la identificación fúngica; sin embargo, la disponibilidad de ésta técnica en laboratorios de diagnóstico clínico, en países en vías de desarrollo, es limitado por su alto costo. Actualmente, el uso de la espectrometria de masas (EM) MALDI-TOF, es cada vez mas frecuente para la identificación de bacterias y levaduras. No obstante, el uso con hongos filamentosos, aún es limitada por la amplia variabilidad biológica entre éstos y por la carencia de espectros para la identificación de algunas especies de importancia en regiones tropicales o que hacen parte de complejos o secciones. El objetivo de este trabajo fue crear una librería in house para la identificación de hongos aislados de pacientes con onicomicosis o dermatofitosis por EM- MALDI TOF.

Materiales y Métodos: Inicialmente se estandarizaron los tiempos mínimos de crecimiento de especies de los géneros *Microsporum*,*Trichophyton*,*Aspergillus*,*Fusarium*,*Sporothrix* y *Neoscytalidium*, posteriormente se crearon 21 espectros de referencia, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania), y ademas se validaron con 16 cepas y 12 aislados clínicos; finalmente se identificaron 52 aislados clínicos del grupo de los dermatofitos y *Neoscytalidium* spp.

Resultados: El tiempo mínimo de crecimiento de las especies evaluadas varió entre 36 y 96 h. Con la librería construida in house se identificó el 88,40 % de los aislados clínicos hasta especies, 1,90 % hasta género y el 7,60 % no se identificó. Se observó una discrepancia en el 2,07 % de las identificaciones con respecto a la secuenciación. El porcentaje de identificaron hasta género y especie (37,00 % y 12,96 %, respectivamente) por la librería comercial fue inferior al logrado con la construida in house

Conclusiones: Variables como el tiempo de crecimiento fúngico, el método de extracción, el número y frecuencia de las masas, así como la incorporación de réplicas biológicas, fueron aspectos clave en la creación de los espectros de referencia. La identificación de los aislados clínicos por EM MALDI-TOF superó la identificación por el método clásico y se demostró la capacidad para identificar especies cripticas con excepción de *T. interdigitale*.

MI 085

0499 - PARACOCCIDIOIDOMICOSIS EN EL NOROESTE ARGENTINO: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE 33 CASOS

SOSA, Maria de Los Angeles [1] | GIUSIANO, Gustavo[2] | ROJAS, Florencia[2] | NEGRONI, Ricardo[3] | ARECHAVALA, Alicia[3] | SANTISO, Gabriela[3] | MESSINA, Fernando[3] | AFELTRA, Javier[4] | CHACÓN, Yone[5] | VALDEZ, Ruth[5] | DAVALOS, Florencia[6] | WACHNITZ, Yanina[2]

LABORATORIO CENTRAL DE CORRIENTES[1]; INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [2]; HOSPITAL MUÑIZ [3]; HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS JOSÉ MARÍA RAMOS MEJÍA [4]; HOSPITAL SEÑOR DEL MILAGRO[5] ; HOSPITAL SAN BERNARDO[6]

Introducción y Objetivos: La Paracoccidioidomicosis (PCM) es la micosis sistémica endémica más frecuente en América Latina. En Argentina, existen dos zonas endémicas, la más extensa en el Noreste que involucra a Formosa, Misiones, Chaco, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe y Santiago del Estero y la del noroeste (NOA), Jujuy, Salta y Tucumán. En estas zonas, los casos no se distribuyen homogéneamente dentro del territorio, sino que tienden a concentrarse cerca de bosques húmedos. El objetivo de este trabajo es presentar datos preliminares sobre aspectos clínico-epidemiológicos de los casos de PCM de la región NOA, en el marco del Estudio Multicéntrico de *Paracoccidioides* y paracoccidioidomicosis llevado por el Dpto. de Micología del Instituto de Medicina Regional de la UNNE

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio descriptivo y retrospectivo de los casos de PCM en el periodo enero de 2015 a mayo de 2019.

Resultados: Se registraron un total de 33 casos. En promedio se registraron aproximadamente 7 casos/año. El 82% de los casos en los Departamentos Orán y Gral. José de San Martín de la provincia de Salta. La relación hombre mujer fue 12:5 con una media de edad de 45 años (rango 12-75) para las mujeres y de 46 años (rango 8-75) para los hombres. Las mujeres afectadas presentaron la forma juvenil de la PCM o eran pos menopáusicas. La forma de presentación tipo juvenil se detectó en el 21% de los pacientes y el tipo crónico del adulto en el 78% de los casos. Refirieron vivir o trabajar en zonas rurales el 42% de los pacientes. La PCM se diagnosticó por exámenes directo en el 94% de los casos y 27% de los casos se confirmó por cultivo. En 2 casos, la prueba serológica fue la única herramienta diagnóstica. Se realizó la búsqueda de anticuerpos por la técnica de inmunodifusión doble en 78% de los casos; 24 % de ellos resultaron negativos. Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron la mucocutánea (49%), seguida por formas pulmonares (33%), ganglionares (30%) y cutáneas 12 (%).

Conclusiones: Siendo que la serología puede constituir en algunos casos la única herramienta diagnóstica, la ausencia de reactividad por la falta de reconocimiento de anticuerpos, exige el conocimiento de las especies y genotipos circulantes y, probablemente, la producción de antígeno con cepas autóctonas. La zona endémica del NOA presenta un clima cálido, con abundantes lluvias, suelos permeables de pH ácido, con numerosos cursos de agua dulce y áreas boscosas. La explotación forestal, la agricultura y ganadería es intensa en estas zonas y las alteraciones producidas en los ecosistemas por estas actividades podrían aumentar las oportunidades de infectarse. Esta zona endémica experimenta cambios epidemiológicos respecto de informes anteriores que registran una alta incidencia formas infanto-juveniles. Es necesario contar con mayor número de casos. Incrementar este conocimiento será un valioso aporte para el desarrollo de técnicas con la suficiente sensibilidad y especificidad para el diagnóstico y seguimiento de esta micosis sistémica.

MI 086

0509 - *TINEA NIGRA* UNA PATOLOGÍA OLVIDADA PERO EXISTENTE: PRESENTACIÓN DE DOS CASOS EN UN HOSPITAL DE LA CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES

ELISIRI, María Elisa [1] | FERNÁNDEZ CANIGIA, Liliana[1] | SANTOS MUÑOZ, Andrea[2] | LUNA, Paula[2] | MALDONADO, Ivana[1]

SECCIÓN MICROBIOLOGÍA. LABORATORIO CENTRAL. HOSPITAL ALEMÁN [1]; SERVICIO DE DERMATOLOGÍA. HOSPITAL ALEMÁN [2]

Introducción: La *tinea nigra* es una afección micótica pigmentada del estrato córneo de la piel, con localización habitualmente palmar o plantar, de curso generalmente crónico y asintomático. Es ocasionada por el hongo dematiáceo *Hortaea werneckii*, que se distribuye geográficamente en zonas tropicales y subtropicales, siendo el diagnóstico en nuestra población poco frecuente. Se describen dos casos clínicos pediátricos ocurridos en diciembre del 2018 y febrero del 2019 en nuestro centro.

Caso Clínico: Caso clínico 1: Paciente de sexo masculino de 9 años de edad, sin antecedentes clínicos ni epidemiológicos de relevancia. Se presenta en nuestra institución en diciembre de 2018 por presentar lesión única en palma de mano izquierda de bordes irregulares, hiperpigmentada. En el laboratorio de microbiología se realiza toma de muestra por raspado con bisturí, observándose en el examen directo con KOH al 40% hifas pigmentados compatibles con hongos dematiáceos. Los cultivos se realizaron en agar Sabouraud glucosado (SDA) con cloranfenicol y agar selectivo y diferencial para el desarrollo de dermatofitos (DTM), incubados a 28 °C. Luego de 7 días desarrolló en SDA con cloranfenicol una colonia levaduriforme negra. Se procedió al reaislamiento de la colonia en agar papa glucosado para obtener una mejor fructificación. Se realizó la identificación del hongo por macro y micromorfología de la colonia como *Hortaea werneckii*. Caso clínico 2: Paciente de sexo femenino de 12 años de edad, con antecedentes de cáncer de ovario en tratamiento quimioterápico. Residente en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, sin historial de viajes recientes. Concurre al servicio de dermatología pediátrica en febrero de 2019 por presentar lesión única hiperpigmentada de bordes irregulares en palma de mano derecha. Se realizó dermatoscopía, en la que se observó una mancha hipercrómica pigmentada, espiculada y de aspecto irregular. En el laboratorio de microbiología se realiza toma de muestra por raspado de la lesión. En el examen directo con KOH al 40% se observan hifas compatibles con

hongos dematiáceos. Los cultivos se realizaron en agar SDA y DTM, incubados a 28 °C por 21 días. No se obtuvo desarrollo en los cultivos. Se realizó diagnóstico de *tinea nigra palmaris* por la clínica y examen directo compatibles.

Conclusiones: Esta infección fúngica superficial se ha descripto como poco prevalente en nuestra región, sin embargo, este y otros reportes previos en nuestra área indicarían que su frecuencia está en aumento y que estaría siendo subdiagnosticada. Es importante la sospecha clínica para arribar a un diagnóstico certero, fundamentalmente para diferenciar de otras patologías dermatológicas malignas, entre las que se incluye el melanoma.

MI 087

0519 - EVALUATION OF FLUCONAZOLE SUSCEPTIBILITY TEST FOR *CANDIDA* SPECIES DIRECTLY FROM POSITIVE BLOOD CULTURES BOTTLES IN A CLINICAL ROUTINE SETTING

CELESTINO DE SOUZA, Ândrea | ORLANDI BARTH, Patricia | COLLIONI CONSTANTE, Caroline | DE SOUZA MARTINS, Daniela | DA CUNHA WILLERS, Denise Maria | PIRES MACHADO, Denise | RUSCHEL PILGER DE OLIVEIRA, Katia | LUTZ, Larissa | DE SOUZA SAMPAIO, Paulo André | WURDIG ROESCH, Eliane | CASTRO PEREIRA, Dariane | RODRIGUES AQUINO, Valério

UNIDADE DE MICROBIOLOGIA, SERVIÇO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Introduction and objectives: Candidemia is the most common manifestations of invasive candidiasis. First-line antifungal agents used for candidemia treatment are echinocandins and fluconazole (FLU). Several studies have indicated the high mortality rates associated with candidemia (up to 50%), regardless of patients immune status. Therefore, prompt initiation of therapy is crucial. Although *Candida albicans* is the most common cause of candidemia, there has been increased isolation of non-albicans species in recent years. These fact highlight the importance of access the antifungal sensitivity profile since susceptibility to antifungal agents varies among the species. In this study we evaluated a FLU resistance detection by rapid disc diffusion (RDD) directly from positive blood culture bottles.

Materials and methods: Blood cultures were incubated in an automated system (Bact/Alert ®) and on the day of positivity the RDD technique was performed. Briefly, inoculation of disk diffusion plates (MH 2% dextrose 0.5 µg/mL methylene blue) using 100 µL directly from a positive blood culture bottle and 25 µg FLU (Oxoid) discs and incubated at 35°C/24 hours. RDD was performed in duplicate. In parallel, the standard disc diffusion method (SD) was performed according to CLSI (M44-A2) from 24h-isolated colonies. The RDD and SD results were interpreted according to the CLSI, 2018. Broth microdilution (MIC) for FLU (Sigma-Aldrich®) was performed for all isolates, according to EUCAST. *Candida krusei* ATCC 6258 and *Candida parapsilosis* ATCC 22019 were used as quality control. Results were compared to the current standard methods and analysed by categorical agreement (CA), very major errors (VME), major errors (ME), minor errors (mE) and kappa coefficient (K). The samples were obtained from blood cultures of patients attended at tertiary care hospital in south of Brazil (September/18 to May/19). Only 1 sample per patient were included and the fungal identification was performed by Vitek MS (Biomerieux).

Results: Total of 40 isolates; *Candida parapsilosis* (35%), *C. albicans* (28%), *Candida orthopsilosis* (15%), *Candida tropicalis* (12%), *Candida glabrata* (5%) and *Candida krusei* (5%) were included in the study. The CA was 95% when RDD results were compared to standard methods SD or MIC (K= 0.84 ($p<0.001$, almost perfect); K= 0.83 ($p<0.001$, almost perfect), respectively). Two (5%) mE were detected; 1 *C. orthopsilosis* isolate susceptible dependent dose (SDD) by RDD and susceptible by SD tes; 1 *C. parapsilosis* resistant by RDD test and SDD by SD test (MIC=4µg/mL).

Conclusions: Overall Kappa scores demonstrated high agreement between rapid disc diffusion and the standard methods for FLU susceptibility profile determination in *Candida spp* directly from blood cultures bottles. The proposed method significantly reduce TAT, at least 24 hours, overcoming the limitations of the conventional methods. Hence, could help to guide appropriately pharmacotherapy and improve patients clinical outcome.

MI 088

0596 - UNCOMMON *CANDIDA* BLOODSTREAM ISOLATES: SPECIES DISTRIBUTION AND SUSCEPTIBILITY PROFILES

CASTRO PEREIRA, Dariane | CELESTINO DE SOUZA, Ândrea | ORLANDI BARTH, Patricia | COLLIONI CONSTANTE, Caroline | DE SOUZA MARTINS, Daniela | DA CUNHA WILLERS, Denise | PIRES MACHADO, Denise | RUSCHEL PILGER DE OLIVEIRA, Katia | LUTZ, Larissa | BRASIL DA SILVA, Matheus | WURDIG ROESCH, Eliane | RODRIGUES AQUINO, Valerio

UNIDADE DE MICROBIOLOGIA, SERVIÇO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Introduction and objectives: Antifungal susceptibility testing for azoles is recommended for all *Candida* spp from bloodstream. Only the most frequent species (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* and *C.glabrata*) have standardization for disc diffusion test for Fluconazole and clinical breakpoints for minimum inhibitory concentration (MIC) for Amphotericin B, Fluconazole and micafungin, according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). For the other Candida species routine laboratories should perform MIC for the antifungals agents. The aim of this study was to determine the MIC values for Amphotericin B (ANFO), Fluconazole (FLU) and Micafungin (MICA) of *Candida* species with out Fluconazole clinical breakpoints.

Materials and methods: The isolates were selected from blood cultures of patients attended at the Hospital de Clínicas of Porto Alegre from December/2004 to May/2019. The identification of the species was performed by Vitek 2 or Vitek MS (Biomerieux). The antifungal agents tested by broth microdilution method were ANFO, FLU and MICA (Sigma-Aldrich). C. krusei ATCC 6258 and C. parapsilosis ATCC 22019 were used as quality control.

Results: Total of 861 *Candida* spp. were in our database (2004-2019). Of these, 54 (6.3%) were species eligible for MIC determination, of which 45 (5.3%) were tested for MIC determination; 14 *C. guilliermondii] (31.1%), 9 C. famata (20%), 7 C. dubliniensis (15.6%), 5 C. pelliculosa (11.1%), 4 C.lusitaniae(8.9%), 2 C. kefyr (4.4%), 1 C.haemulonii (2.2%); 1 C.inconspicua (2.2%), 1 C. norvegensis (2.2%)* and *1 C fabianii (2.2%).* The range of MIC, MIC50 and MIC90 for FLU were, respectively, 0.125-32 µg/mL, 1 µg/mL and 8 µg/mL for MICA were <0.008-16 µg/mL, 0.0625 µg/mL and 1 µg/mL and for ANFO were 0.016-0.5 µg/mL, 0.0625 µg/mL and 0.25 µg/mL when the species were all evaluated together.

Conclusions: We observed a low incidence of uncommon species of Candida. ANFO showed the lowest MIC range against rare *Candida* species tested in this study. *C. guilliermondii* was the most prevalent specie and all isolates presented MIC value to FLU under epidemiological cut-off according to EUCAST. Resistance to FLU were observed for *C. kefyr, C.norvegensis, C.inconspicua* and *C.fabianii* isolates, interpretation were determined on the basis of PK/PD data.

MI 089

0597 - INFECCIÓN DE PIEL Y PARTES BLANDAS POR *APOPHYSOMYCES SP* EN PACIENTE DIABÉTICA TIPO I CON TRASPLANTE RENO-PANCREÁTICO

FORASTIERO, Agustina [1] | JORDAN, Rosana[1] | HEVIA, Alejandra[2] | ABRANTES, Ruben[2] | CORDOBA, Susana[2] | AGORIO, Iris[1]

HOSPITAL BRITÁNICO [1]; DEPARTAMENTO MICOLOGÍA, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS "DR. C. G. MALBRÁN", ANLIS [2]

Introducción: Las infecciones fúngicas (IF) por hongos del orden Mucorales pueden presentarse en pacientes inmunocomprometidos, diabéticos (DBT) con cetoacidosis metabólica o pacientes con politraumatismos. Son micosis cosmopolitas, poco frecuentes y de rápida evolución; con presentaciones clínicas muy variables. Los agentes etiológicos más frecuentes pertenecen a los géneros Rhizopus, Mucor y Lichtheimia, mientras que Apophysomyces y Saksenaeapresentan una menor frecuencia. El pronóstico suele ser grave, con elevada morbimortalidad, principalmente cuando no se realiza un diagnóstico temprano ni se instaura a tiempo un tratamiento (TTO) adecuado.

Caso Clínico: Paciente femenina de 48 años, DBT tipo I, con antecedentes de neuropatía periférica y amputación de 1er dedo del pie derecho por infección severa asociada a pie diabético. Requirió trasplante reno-pancreático en el año 2017; bajo TTO inmunosupresor con deltisona y tacrolimus. Evolucionó con rechazo del riñón; en hemodiálisis trisemanal. Ingresa al hospital el 16/01/2018 con hiperglucemia y rechazo del páncreas. Evoluciona con sucesivas internaciones por infecciones de piel y partes blandas y osteomielitis en pie derecho, recibiendo múltiples esquemas antimicrobianos de amplio espectro, por tiempo prolongado y amputación de pie. A los 45 días post amputación presentó úlceras necróticas con celulitis circundante en cara tibial anterior derecha. Se solicita estudio microbiológico. En el directo blanco de calcofluor, se observaron hifas no tabicadas que desarrollaron a las 24h en agar Sabouraud (28ˆoC) y BHI (35ˆoC) como colonias blancas algodonosas, con hifas cenocíticas sin estructuras de fructificación que permitieran su identificación (ID). Se derivó al Centro de Referencia (CR) para su ID y sensibilidad. Inició TTO con anfotericina B (AmB) liposomal. En el CR el estudio morfológico se realizó en agar tierra, papa dextrosado y Czapek a 25ˆoC. A los 7 días se obtuvo desarrollo de colonias blancas, algodonosas que al microscopio presentaron esporangios piriformes con apófisis en forma de embudo. La secuenciación del fragmento ITS1-5.8S- ITS2 del ADNr permitió confirmar la ID del aislado como Apophysomyces sp. La prueba de sensibilidad in vitro mostró para AmB una CIM: 1 mg/L. La paciente cumplió 21 días de TTO, con evolución favorable de sus lesiones, con cura clínica y microbiológica. Al mes de finalizado el TTO la paciente falleció debido a sepsis por infección polimicrobiana bacteriana con necrosis del muñón e insuficiencia renal terminal.

Conclusiones: Es importante la sospecha de las IF producidas por *Apophysomyces sp*. en pacientes inmunosuprimidos y DBT, especialmente con cetoacidosis, que presentan úlceras necróticas con celulitis circundante de rápida evolución. El uso de técnicas de referencia y moleculares se hace indispensable para llegar a la ID. Un diagnóstico rápido y un TTO adecuado son herramientas fundamentales para evitar un desenlace fatal y disminuir la morbimortalidad.

CAM - Microbiologia agrícola

MI 090

0480 - ACEITES ESENCIALES DE FLORES DE LUPULO PARA EL CONTROL DE *PAENIBACILLUS LARVAE* Y *VARROA DESTRUCTOR*, PRINCIPALES PATOLOGÍAS EN ABEJAS

GIMENEZ MARTINEZ, Pablo [1] | IGLESIAS, Azucena[2] | RAMIREZ, Cristina[3] | MITTON, Giulia[4] | FUENTES, Giselle[5] | FANOVICH, Maria Alejandra[6] | FUSELLI, Sandra[7] | MAGGI, Matias[8]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN PRODUCCIÓN, SANIDAD Y AMBIENTE/CONICET [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN PRODUCCIÓN, SANIDAD Y AMBIENTE / CONICET [2]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA Y BIOQUÍMICA, FCEYN, UNMDP [3]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN PRODUCCIÓN, SANIDAD Y AMBIENTE / CONICET [4]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN PRODUCCIÓN, SANIDAD Y AMBIENTE (IIPROSAM) [5]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES [6]; COMISIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (CIC) [7]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN PRODUCCIÓN, SANIDAD Y AMBIENTE / CONICET [8]

Introducción y Objetivos: *Humulus lupulus* comúnmente llamado lúpulo, es una de las tres especies del género *Humulus*, actualmente conocido por su utilización en la industria cervecera. En los últimos años, se ha investigado el uso de sus extractos vegetales como antiparasitarios y/o antibacterianos alternativos a los de síntesis. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antiparasitaria y antimicrobiana de los aceites esenciales obtenidos de flores de *Humulus lupulus* (variedad Cascade y Victoria) frente a la bacteria Gram positiva *Paenibacillus larvae* y el ácaro ectoparásito de las abejas *Varroa destructor*, principales agentes patológicos de las colonias melíferas.

Materiales y Métodos: Para la obtención de los aceites se procedió a secar en estufa, entre 48 y 55 °C, un gramo de flores de cada variedad durante 48 horas, y se realizó una hidrodestilación. Se determino la composición química de los aceites obtenidos mediante Cromatografía Gaseosa acoplado a detector de Masa. Con el fin de evaluar la actividad antimicrobiana se ensayaron cuatro concentraciones de los aceites (500, 250, 125 y 62.5 µl/mL) en acetona y se procedió a realizar la técnica de difusión en agar. La actividad acaricida se determinó mediante la técnica de exposición completa evaluando cuatro concentraciones crecientes (2.5, 5, 10 y 20 µl/mL) resuspendidas en hexano y se contabilizó la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas, luego se procedió a estimar la Concentración Letal 50 (CL_{50}).

Resultados: El análisis químico de ambos aceites mostró que el componente mayoritario para ambas variedades fue el beta-mirceno. A la hora de analizar la actividad antimicrobiana frente a *P. larvae* se observó que a todas las concentraciones testeadas la variedad Victoria presentó mayor halo de inhibición que Cascade. El aceite esencial obtenido para la variedad Victoria presentó mayor actividad acaricida en comparación con la variedad Cascade, en todos los tiempos de observación.

Conclusiones: Se concluye que la variedad Victoria presenta mejor bioactividad frente a ambos patógenos. Futuros estudios deberían evaluar la aplicación de estos aceites en colonias de abejas, como una alternativa natural a emplear en el control de las patologías apícolas estudiadas.

MI 091

0844 - POTENCIAL ANTI-*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DE MIELES PROVENIENTES DE COLMENAS SUPLEMENTADAS CON *LACTOBACILLUS SALIVARIUS* A3IOB

COCHERI, Cecilia[1] | **AUDISIO, Carina** [2] | TORRES, Maria Julia[2]

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA. [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES PARA LA INDUSTRIA QUÍMICA (INIQUI-CONICET)/UNIV. NACIONAL DE SALTA [2]

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus aureus* es una bacteria responsable de las principales causas de infección en heridas. El uso prolongado de antibióticos produce resistencia de este género bacteriano, por lo que actualmente se requiere del estudio de alternativas antibióticas naturales. La miel es un producto alimenticio conocido por su actividad antibacteriana y por el poder de cicatrización de heridas, por esto que, el objetivo de este trabajo fue estudiar el potencial anti-*Staphylococcus aureus* de miel proveniente de colmenas previamente administradas con la bacteria apipromotora *Lactobacillus salivarius* A3iob y comparar dicho efecto con miel cosechada de colmenas sin tratamiento bacteriano.

Materiales y Métodos: Se utilizó el método de difusión en agar para evaluar el efecto antibacteriano de mieles de apiarios de Cachi, Salta (Vivero, Cardozo, Mamaní), obtenidas de colmenas administradas con *L. salivarius* A3iob (miel A3iob) y de colmenas sin tratar (miel control). Se estudiaron 9 cepas de *S. aureus*. Para cuantificar la actividad inhibitoria de la miel del Apiario Vivero (miel A3iob y miel control) en 6 diluciones diferentes (10, 20, 30, 40, 50, 60%) se empleó el método de contacto directo en microplaca. Se estudió a *S. aureus* ATCC 43300 como cepa indicadora y su viabilidad (ufc/mL) fue medida a las 0, 6 y 24 h de contacto. A las 24h, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) por observación de los pocillos con ausencia de turbidez. Finalmente, se tomó una alícuota de estos y se inoculó en medio fresco Muller Hinton para evaluar la capacidad de reactivación de la bacteria o no (CBM: concentración bactericida mínima de cada miel).

Resultados: Los resultados con el método de difusión en agar revelaron en general actividad anti-*S. aureus* en las muestras de los 3 apiarios (miel A3iob como la miel control). Se prosiguió un estudio más profundo con la miel del apiario Vivero y con *S. aureus* ATCC 43300 como cepa indicadora. A las 24h de contacto entre las diferentes diluciones de miel y la bacteria patógena, se identificó como CMI de la miel A3iob y la miel control la dilución 30%. El seguimiento de la viabilidad por recuento de ufc/mL reveló que las diluciones 50 y 60% de la miel control redujeron la viabilidad de *S. aureus* ATCC 43300 en 4 órdenes log, mientras que las diluciones 50 y 60% de la miel A3iob la disminuyeron en 5 y 9 órdenes log, respectivamente. Finalmente, la reactivación en medio fresco de un inóculo procedente de las diluciones 30 a 60%, indicó un efecto bactericida de la miel A3iob (CBM: 50%) a diferencia de la miel control, que solo mostró un efecto bacteriostático con todas las diluciones.

Conclusiones: En conclusión, la miel proveniente de colmenas suministradas con la bacteria apipromotora *L. salivarius* A3iob reveló un incremento potencial en su actividad anti-*S. aureus*, con un efecto bactericida promisorio, no detectado con miel de colmenas controles.

MI 092
0030 - EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE *BACILLUS SUBTILIS* EN UN CULTIVO DE SOJA

SARTI, Gabriela Cristina [1] | CRISTÓBAL- MIGUEZ, Josefina A.[1] | ALEGRE, Belén A.[1] | RIGAZZIO, Cristina[1] | FILOSAFIA, Julián E.[2] | BURGUEÑO, Lautaro[2] | MARCHESE, Sofía[2] | CURÁ, Alfredo José[2]

CÁTEDRA DE QUÍMICA INORGÁNICA Y ANALÍTICA. FACULTAD DE AGRONOMÍA. UBA [1]; CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE AGRONOMÍA. UBA [2]

Introducción y Objetivos: Una de las principales causas de desequilibrios en las comunidades microbianas del suelo se debe al continuo uso de agroquímicos, los mismos reducen la biodiversidad de la flora microbiana y en este contexto la población de *Bradyrhizobium japonicum*, bacteria fundamental para asegurar el aporte de nitrógeno al cultivo. Con el propósito de probar nuevas tecnologías que aumenten la productividad del mismo sin deteriorar el ambiente, se implementa la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR). Las PGPR influyen en forma directa mejorando la nutrición vegetal o disminuyendo el número de microorganismos patógenos. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar 1-la capacidad de *Bacillus subtilis* para actuar contra fitopatógenos que originan enfermedades de pre y post emergencia en soja. 2-el efecto de la coinoculación de *Bacillus subtilis* junto con *B. japonicum*sobre semillas de soja crecidas en cámara de cultivo. 3-el efecto de la coinoculación de un consorcio bacteriano sobre semillas de soja crecidas bajo condiciones de invernadero y capacidad de los microorganismos de infectarlas raíces de las plántulas.

Materiales y Métodos: Se realizaron ensayos in vitro de antibiosis entre *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* y hongos de los Géneros *Fusarium y Pythium*. Para los ensayos de coinoculación se embebieron las semillas con cultivos líquidos de *B. subtilis y B. japonicum* y se sembraron en tubos con perlita y vermiculita como sustrato. Se cosecho a los 25 días. Del mismo modo los ensayos donde se utilizó un consorcio microbiano, se embebieron semillas con cultivos líquidos de *B. subtilis. B. japonicum* y bacterias pertenecientes a los Géneros *Pseudomonas y Serratia*, se sembraron en macetas con tierra fértil y vermiculita como sustrato. Se cosechó a los 35 días. Las raíces fueron desinfectadas, maceradas y sembradas en medios específicos. Los resultados se analizaron mediante ANOVA y posterior Tukey ($p<0,05$).

Resultados: *B. subtilis* inhibió el desarrollo de *Fusarium solani, Fusarium graminearum y Pythium* sp. En el ensayo de coinoculación con *B subtilis. y B. japonicum*el crecimiento se incrementó con respecto a las plantas inoculadas sólo con *B. japonicum* un 30% la parte aérea, 50% en la raíz , 10% en número de hojas y 50% número de nódulos . La inoculación del consorcio bacteriano mostró un incremento en el desarrollo de la parte aérea y raíces con respecto al control inoculado con *B. japonicum* pero no fue estadísticamente significativo. Sin embargo, se observaron diferencias significativas en el número de nódulos. En cultivos en placa se evidenció la infección de las raíces con los Géneros *Bradyrhizobium, Serratia y Bacillus*.

Conclusiones: *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* fue efectiva contra los fitopatógenos estudiados. Logró infectar las raíces, fue efectiva como PGPR y beneficiosa en la simbiosis rhizobio-leguminosa. Sin embargo el consorcio bacteriano sugiere una actividad inhibitoria entre las cepas. *B. subtilis* sería promisoria para su utilización como biofertilizante en soja.

MI 093

0081 - EFECTO DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR) EN EL CRECIMIENTO Y LA NUTRICIÓN DE PLANTAS DE *MELIA AZEDARACH*

RAMÍREZ, Carolina [1] | CARDOZO, Marina Cecilia[2] | GALDEANO, Ernestina[1] | COLLAVINO, Mónica Mariana[1]

INSTITUTO DE BOTÁNICA DEL NORDESTE, IBONE [1]; FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNNE. [2]

Introducción y Objetivos: La amplia variación genética dentro de especies de microorganismos, al igual que en las plantas, explica la necesidad de desarrollar combinaciones específicas de las cepas microbianas con mayor eficacia para una especie vegetal y en diferentes condiciones ambientales (Malusa et al. 2007). El paraíso es un árbol muy cultivado en varias regiones del mundo debido principalmente a la multiplicidad de sus usos y la calidad de su madera. En la Argentina se cultiva en el noreste y centro del país, en especial en la provincia de Misiones (Mangieri et al 1977). En este trabajo se evaluó el efecto en el crecimiento de plantas de paraíso de cinco bacterias endofíticas previamente caracterizadas por sus actividades in vitro como potenciales PGPR.

Materiales y Métodos: Las plantas de paraíso fueron multiplicadas in vitro aplicando el protocolo desarrollado por Vila et al 2003. Una vez enraizadas fueron trasplantadas a macetas con perlita esterilizada, regadas con solución de Hoagland y mantenidas en cámara de cultivo en condiciones controladas. Se ensayaron inoculaciones con las siguientes bacterias endófitas de paraíso: 1-con Bacillus sp A101, 2- Burkholderia sp M55, 3- Psedudomas sp A116, 4- Pseudomonas sp A60 y 5- Cupriavidus sp N1, seleccionadas por presentar los mayores valores en las actividades de producción de ácido indol-3-acético, sideróforos, solubilización de P, actividad ACC desaminasa y fijación de N2. Una semana después del transplante se aplicó 1 ml de la suspensión bacteriana (1x108 UFC) al cuello de cada raíz. El diseño experimental fue en bloques completos al azar. Los tratamientos fueron seis incluyendo un control no inoculado, con 20 repeticiones por tratamiento. A los 120 días de la inoculación se realizaron las siguientes evaluaciones: altura total, diámetro del cuello, área foliar, peso seco de hojas, tallos y raíces, clorofila a, b y total (espectometría), N, P (método Murphy-Riley), K y Na (fotometría de llama) Ca y Mg (complejometría con EDTA) en hoja.

Resultados: En todas las variables analizadas se observaron incrementos significativos en los tratamientos con las cepas inoculadas con respecto al tratamiento testigo, excepto en las variables altura total y peso seco de raíces. Los mayores valores de área foliar, clorofila total y niveles K, Mg y N se observaron en las plantas inoculadas con las cepas Pseudomonas sp. A60 y Cupriavidus sp. N1. Es interesante observar que estas cepas presentan valores más bajos de Ca que el tratamiento testigo. Todos los tratamientos inoculados presentaron valores significativamente mayores de clorofila b y relaciones a/b menores en comparación con el tratamiento testigo. Dado que la concentración de clorofila b determina la eficiencia en la captura de la luz cuando la intensidad de la misma es baja, estos resultados indicarían mayor tolerancia a la sombra en las plantas inoculadas (Niinemets & Kull, 1994). Finalmente, el análisis de componentes principales indica que el tratamiento testigo se separa de los tratamientos inoculados, estos últimos asociados a incrementos en la mayoría de las variables evaluadas.

Conclusiones: Las cepas evaluadas aportaron beneficios importantes en las plantas de paraíso, referidos a aumento de la producción aérea, estado nutricional y eficiencia fotosintética. Particularmente la inoculación con Cupriavidus sp N1 fue la que presentó los mejores resultados para la mayoría de las variables, lo que podría estar asociado a los altos niveles de actividad ACC desaminasa que presenta la cepa. No obstante, aún se debe evaluar si en plantación a campo, persiste el comportamiento observado. Esto permitiría recomendar a la inoculación con PGPR como una práctica forestal para promover el crecimiento en la especie.

MI 094

0148 - *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* AZ39 PROMUEVE LA GERMINACIÓN *IN VITRO* Y EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE *EUSTOMA GRANDIFLORUM*

SANTOS, María Paula | MARTINEZ, Sergio | CARLETTI, Susana | LARRABURU, Ezequiel

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

Introducción y Objetivos: Lisianthus *Eustoma grandiflorum* es una especie floral que presenta sensibilidad a las temperaturas superiores a 30°C en el periodo comprendido entre la germinación y el 4° par de hojas. Esas altas temperaturas provocan problemas de arrosetamiento y retraso de la floración. Por otro lado, esta especie presenta un ciclo de crecimiento prolongado para la obtención de la flor de corte. La germinación *in vitro*, resulta una alternativa útil para favorecer el desarrollo de plántulas que podrían ser aclimatadas o clonadas, o realizar estudios de interacción planta bacteria. Si bien el cultivo y la obtención de plantines de *E.grandiflorum* ha sido descrito, es escasa la información sobre los mecanismos involucrados en la interacción lisianthus- *Azospirillum brasilense* . La biofertilización ha resultado beneficiosa en la germinación y el crecimiento de diferentes especies florales (*Nierembergia linariaefolia*, *Matthiola incana*, *Petunia hybrida*,

etc). El objetivo del presente trabajo es evaluar aspectos fisiológicos y morfológicos involucrados en la germinación *in vitro* de *E. grandiflorum* inoculado con *A.brasilense* Az39.

Materiales y Métodos: Las semillas fueron desinfectadas, cultivadas en tubos con medio Murashige y Skoog e inoculadas con diferente carga microbiana (10^7, 10^6 ufc) de *A.brasilense* Az39. El inóculo bacteriano fue realizado en medio líquido de Okon cultivando durante 72hs a 32±1°C con agitación (140 rpm con excentricidad de 2,5 cm) y el recuento se realizó en placa mediante la siembra de diluciones sucesivas del cultivo obtenido. Los parámetros determinados fueron número de hojas, porcentaje de germinación, pesos fresco y seco de parte aérea y raíz. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado considerando como variable la concentración de inóculo. Los ensayos se realizaron por triplicado, con al menos 10 repeticiones por tratamiento. Las comparaciones de medias se realizaron usando test de Tukey ($p<0.05$). Los análisis estadísticos se evaluaron mediante el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) v 21.0.

Resultados: Aunque el porcentaje de germinación no fue elevado, la bacterización en sus dos niveles incrementó significativamente 52-57% respecto al control pero no generó diferencias significativas entre tratamientos inoculados. Además, 10^6 ufc generó los mayores incrementos significativos del 60 al 567% en todos los parámetros evaluados.

Conclusiones: La inoculación con la cepa Az39 al momento de la siembra promueve el alargamiento radical, el aumento de biomasa de raíces y de la parte aérea de la planta, como así también un mayor número de hojas.

MI 095

0175 - AISLAMIENTO Y SELECCION DE CEPAS DE *TRICHODERMA* COMO POTENCIALES BIOFERTILIZANTES PARA HORTALIZAS DE HOJA

PEREZ ESPINOSA, Maximiliano[1] | GARCÍA CASALI, María Florencia[1] | GROISMAN, Daiana[1] | CUROTTO, Ignacio[1] | GUINZBURG, Dana[1] | ABLIN, Marcela[2] | CLOZZA, Mario[2] | **BERGOTTINI, Veronica** [1]

UNIVERSIDAD ARGENTINA DE LA EMPRESA, INSTITUTO DE TECNOLOGÍA (INTEC) [1]; ÁREA DE PRODUCCIÓN VEGETAL ORGÁNICA, FACULTAD DE AGRONOMÍA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]

Introducción y Objetivos: El cultivo de hortalizas de hoja como la rúcula (*Eruca sativa* Gersault.) y la lechuga (*Lactuca sativa* L.) se realizan bajo sistemas productivos que requieren la aplicación intensiva y frecuente de agroquímicos. Existe una necesidad imperante en el sector hortícola de adoptar prácticas agrícolas más sustentables que puedan garantizar la seguridad alimentaria y la protección del medio ambiente. Los hongos del género *Trichoderma* se caracterizan por sus actividades de biofertilización, bioestimulación y biocontrol, representando una alternativa ecológica y económica para mejorar el crecimiento y sanidad de las hortalizas. El objetivo de este trabajo consistió en aislar y seleccionar cepas de *Trichoderma* asociadas a la rizósfera de plantas de rúcula y lechuga como potenciales inoculantes para estos cultivos.

Materiales y Métodos: El screening de cepas se realizó a partir de muestras rizosféricas empleando el método de dilución en agar PDA. El potencial de las mismas como biofertilizantes fue evaluado en ensayos de plantas en condiciones de vivero. Semillas orgánicas de rúcula y lechuga fueron peleteadas con una suspensión de esporas de cada cepa y germinadas en almacigueras con tierra como sustrato. Luego de 6 semanas de cultivo, las plantas inoculadas y controles (sin inocular) fueron cosechadas para determinar peso fresco y peso seco.

Resultados: Seis cepas del género *Trichoderma* fueron identificadas mediante el análisis morfológico de las colonias y la observación microscópica de los conidióforos. Los resultados obtenidos demostraron que los tratamientos de inoculación con *Trichoderma* incrementaron significativamente el peso fresco y seco de las plantas con respecto al control. Se determinó la presencia de esporas viables en cada uno de los tratamientos al momento de su cosecha sugiriendo la capacidad de las cepas de sobrevivir y colonizar la rizósfera de las plantas.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que la inoculación de hortalizas de hoja con cepas de *Trichoderma* spp. representa una opción ecológica y económica para incrementar la productividad de estos cultivos reduciendo el uso excesivo de agroquímicos.

MI 096

0212 - LOS MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO COMO BIOFERTILIZANTES EN MANZANILLA *MATRICARIA CHAMOMILLA* L

ARCHILLA, Mariela Valeria | BRUNO, Marina Anabel | SALLOUM, María Soraya | GILESKY, Natalia | VÁZQUEZ, Carolina | GONZÁLEZ, Matías | LUCINI, Enrique Iván | MERLO, Carolina

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. CÓRDOBA. ARGENTINA.

Introducción y Objetivos: La manzanilla *Matricaria chamomilla* L. es una planta medicinal anual herbácea que pertenece a la familia Asteraceae y es ampliamente utilizada en la medicina tradicional y en las industrias farmacéutica y cosmética. Debido a que este cultivo se suele consumir sin procesamiento posterior a la cosecha, es importante que los residuos de fertilizantes inorgánicos no estén presentes. Para ello, una alternativa es el uso de compuestos amigables con el ambiente como los biofertilizantes: rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) y hongos promotores del crecimiento vegetal (PGPF): micorrizas vesículo arbusculares (MVA). Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), han demostrado capacidad para incrementar o estimular el crecimiento y desarrollo de las plantas a través de la producción y exudación de diversas sustancias químicas. Los PGPF incrementan la superficie radicular y mejoran la disponibilidad de fósforo. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de microorganismos promotores del crecimiento sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas de manzanilla.

Materiales y Métodos: Se realizó la plantación en bandejas, con sustrato estéril compuesto por tierra negra y vermiculita en proporciones iguales, que se mantuvieron bajo un sistema de riego por niebla, bajo condiciones controladas. Se realizaron 8 tratamientos: *Azospirillum brasiliense* (A), *Pseudomonas fluorescens* (P), MVA, A+P, A+MVA, P+MVA, A+P+MVA, fertilizante químico y un testigo, en bloques al azar.

Resultados: Los tratamientos de A y P se aplicaron regando el sustrato de manera de garantizar 2 x 10^9 bacterias/m^2; y en MVA 0,5 g de inóculo/planta. Se determinó: a) altura de plantas, b) peso fresco de raíz, c) cantidad de flores, d) peso de las flores y e) diámetro del capítulo (solo en flores tubulares). La altura no varió en forma significativa. En cambio, el peso fresco de la raíz fue superior en los tratamientos con fertilizante químico y *Azospirillum*. La cantidad de flores varió en forma significativa siendo mayor en el tratamiento A+P. En todos los tratamientos (excepto A+P), el tamaño de las flores superó al testigo. Todos los tratamientos lograron un marcado incremento en el peso de las flores con respecto al testigo (excepto A+P+MVA). Los tratamientos que incluyeron *Pseudomonas* se destacaron en una mayor producción y peso de las inflorescencias. En los tratamientos con presencia de *Azospirillum* y fertilizante químico se obtuvo un aumento de la biomasa radicular.

Conclusiones: En conclusión, los resultados sugieren que la aplicación de biofertilizantes como sustituto de fertilizantes inorgánicos, puede ser una buena opción para el cultivo de manzanilla y debe considerarse como una alternativa para mejorar las condiciones ambientales e implicancias en la salud humana.

MI 097

0246 - TOXICIDAD DE PROTEÍNAS CRY INDIVIDUALES Y EN MEZCLAS, DE *BACILLUS THURINGIENSIS* PARA LARVAS DE *CYDIA POMONELLA*

ONCO, María Inés | SAUKA, Diego | PÉREZ, Melisa | BERRETTA, Marcelo | BENINTENDE, Graciela

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA). INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA Y ZOOLOGÍA AGRÍCOLA

Introducción y Objetivos: Entre las principales plagas de frutales de pepita se encuentra *Cydia pomonella* Linneaus [Lepidoptera: Tortricidae]. Su control se realiza mediante fumigaciones con insecticidas químicos con todos los riesgos medioambientales que acarrean, es por eso que otros métodos que contemplen organismos benéficos como *Bacillus thuringiensis*, constituyen una opción eficaz y ambientalmente segura. *B. thuringiensis* se caracteriza principalmente por producir cristales paraesporales de naturaleza proteica (proteínas Cry y Cyt) durante la fase de esporulación. Para un uso más eficiente de estas proteínas insecticidas ya sea como ingredientes activos de bioinsecticidas convencionales o expresadas en plantas transgénicas, es importante conocer cuáles presentan la mayor toxicidad para una plaga blanco y cuáles de ellas interactúan sinérgicamente. Es también de interés conocer el potencial de mezclas de proteínas insecticidas para reducir o retrasar la generación de insectos resistentes a proteínas individuales. En este trabajo se evaluó la toxicidad de proteínas individuales Cry de *B. thuringiensis* y de diferentes mezclas, en larvas de *C. pomonella* y se analizaron las interacciones entre ellas.

Materiales y Métodos: Se realizaron bioensayos para determinar la virulencia en *C. pomonella* de cuatro proteínas Cry individuales que resultaron ser tóxicas en estudios preliminares. Se evaluaron seis concentraciones de cada preparación (suspensión de *pellet* seco y molido en solución tamponada de carbonato de sodio) para la estimación de la CL_{50} y otros parámetros estadísticos. Por otro lado, se ensayaron 5 mezclas de proteínas Cry solubilizadas y se calcularon sus factores de sinergismo (FS).

Resultados: Según los resultados obtenidos, las proteínas Cry1Aa y Cry1Ab resultaron ser las más tóxicas mostrando un nivel de acción similar. Asimismo, ambas resultaron aproximadamente dos veces más tóxicas que Cry1Ia y entre cuatro a cinco veces más que Cry2Aa. El FS para la mezcla de proteínas Cry1Ab/Cry1Ia mostró un FS mayor que 1, sugiriendo un efecto sinérgico entre ambas proteínas Cry. Por otro lado, las mezclas Cry1Aa/Cry2Aa y Cry1Ab/Cry2Aa mostraron un FS menor a 1, sugiriendo un efecto antagonista y

finalmente, Cry1Aa/Cry1Ia y Cry1Aa/Cry1Ab presentaron un FS cercano a 1 evidenciando un efecto aditivo entre las mismas.

Conclusiones: En conclusión, las proteínas individuales Cry1Aa y Cry1Ab poseen altos niveles de toxicidad para *C. pomonella*, por lo que podrían utilizarse para su control, ya sea formando parte de bioinsecticidas de primera generación o de organismos modificados genéticamente (OMG) expresando dichas toxinas. El uso simultáneo de Cry1Ab/Cry1Ia también podría emplearse para un control óptimo de *C. pomonella*, ya que la mezcla mostró un efecto sinérgico. El uso combinado de Cry1Aa/Cry2Aa y Cry1Ab/Cry2Aa en OMG debería ser evitado, ya que mostraron un antagonismo moderado y probablemente compartan el mismo sitio de unión.

MI 098

0260 - ETIOLOGÍA DE LA MANCHA DE LA ALMENDRA CON PRODUCCIÓN DE GOMA OBSERVADA EN EL VALLE MEDIO DE RÍO NEGRO

MARANGI, Maria Julia[1] | TEMPERINI, Carolina Virginia[2] | FERNANDEZ, Diana[3] | PARDO, Alejandro Guillermo[4] | **POSE, Graciela Noemí** [4]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO NEGRO - CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO NEGRO [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [3]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [4]

Introducción y Objetivos: La "Mancha Bacteriana de la Almendra" (Bacterial Spot of Almond) es una patología causada por *Xanthomonas arborícola pv. pruni*. Es un problema importante en Australia y durante 2013-2014 se reportó en California. Fue descripto que las lesiones comienzan en la cáscara, como manchas acuosas pequeñas, produciéndose una sustancia gomosa color ámbar claro a oscuro. Las lesiones son marrones y aumentan lentamente en diámetro (2 a 4 mm, generalmente menor a 5 mm). El color de la sustancia gomosa es importante porque ayuda a distinguir la patología de otros tipos de daños. Durante 2017, en plantaciones de Luis Beltrán, Valle Medio de Río Negro (VMRN), se observaron frutos jóvenes de almendro con pequeñas lesiones circulares acuosas, de las cuales emergía una sustancia ámbar gomosa. El objetivo de este trabajo fue determinar la etiología de esta patología, considerando que los síntomas eran coincidentes con los previamente descriptos a los causados por *X. arborícola pv. pruni* y que en los últimos años fueron determinados casos de Bacteriosis del Nogal (*X. arborícola pv. juglandis*) y Necrosis Apical del Nogal (*X. arborícola pv. juglandis* y *Alternaria spp.*) en el VMRN, siendo Luis Beltrán una de las zonas afectadas.

Materiales y Métodos: Luego de una desinfección superficial de los frutos, tejidos internos fueron extraídos desde la lesión y colocados en solución fisiológica estéril. Luego de homogeneizar, 0,1 ml de la suspensión fue inoculado en medio Luria Bertani (LB). Las placas se incubaron a 27°C durante 4 días. Las colonias sospechosas de ser *Xanthomonas* fueron repicadas a un medio diferencial para este género, Xan-D. Género y especie fueron confirmados mediante técnicas moleculares. La extracción de ADN se realizó utilizando el kit "DNeasy blood and tissue mini kit" (Qiagen) con un protocolo de pre-tratamiento para bacterias Gram negativas, de acuerdo al protocolo del proveedor. El ADN genómico extraído se cuantificó utilizando un fluorómetro Qubit 2.0 (Life Technologies). Se realizó la amplificación (PCR) y secuencia de los fragmentos amplificados con los primers especie específicos para *X. arborícola*XarbQF y XarbQR (gen qumA - quinato deshidrogenasa). La patogenicidad fue comprobada de acuerdo a los postulados de Koch, inoculando frutos sanos inmaduros con los microorganismos aislados y re-aislando el patógeno.

Resultados: Se pudo determinar la presencia de *X. arborícola*, confirmado por análisis molecular, en 4 de 5 muestras analizadas. Respecto a las pruebas de patogenicidad, se repitió la sintomatología y se observó la producción de goma en el total de los frutos inoculados.

Conclusiones: A partir de los resultados obtenidos, se presume la presencia de Mancha Bacteriana de la Almendra causada por *X. arborícola pv. pruni* en el VMRN.

MI 099

0274 - CAMBIOS ESTACIONALES EN LA ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO EN DISTINTOS SISTEMAS PRODUCTIVOS EN EL CHACO ÁRIDO DE CÓRDOBA

VÁZQUEZ, Carolina | VERDENELLI, Romina Aylén | MERLO, Carolina | **PRIETO, María Cecilia** | GONZÁLEZ, Matías | LUCINI, Enrique Iván | KOWALJOW, Esteban | MERILES, José Manuel

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. CÓRDOBA. ARGENTINA.

Introducción y Objetivos: Las comunidades microbianas del suelo están involucradas en la regulación de la dinámica del C y del N, y juegan un papel preponderante en la disponibilidad de nutrientes, la salud del suelo y la sustentabilidad de los agroecosistemas. Los cambios en el uso de la tierra pueden alterar la estructura de las comunidades microbianas del suelo, modificando los procesos en las cuales ellas participan. Particularmente, en ecosistemas áridos los patrones estacionales pueden afectar la abundancia y estructura de las comunidades microbianas. El objetivo de este estudio fue determinar los cambios estacionales producidos en la estructura, composición y diversidad de las comunidades microbianas del suelo debido al uso productivo.

Materiales y Métodos: Se trabajó al oeste de la provincia de Córdoba en un área representativa de la ecoregión del Chaco árido. Dentro del área de estudio se muestrearon cuatro sitios: un sitio no disturbado (Reserva Chancaní) y tres sitios productivos: desmonte total y selectivo con ganadería (DT-ganadería y DS-ganadería) y desmonte total con agricultura (DT-agricultura). En cada sitio se tomaron 3 muestras compuestas de suelo (0-20cm) durante la temporada seca (agosto-2011) y la húmeda (febrero-2012) y se determinó: a) abundancia de bacterias y hongos por qPCR y b) estructura y diversidad de la comunidad bacteriana por PCR-TRFLP.

Resultados: No se detectaron variaciones significativas en la abundancia de bacterias entre sitios. La abundancia de bacterias sí varió de la temporada seca a la húmeda en el sitio R-Chancaní, siendo superior durante la húmeda. La abundancia fúngica no se modificó entre sitios durante la temporada seca pero sí durante la época húmeda, siendo más elevada en el sitio DS-ganadería. No se detectaron variaciones durante temporadas. La abundancia fúngica evaluada en todos los sitios fue aproximadamente dos veces menor que la bacteriana. El número de TRF (fragmentos) compartidos entre todos los sitios fue más bajo en la temporada húmeda que en la seca. El uso del suelo modificó en forma substancial la estructura de la comunidad bacteriana. El sitio R-Chancaní mostró el menor número de TRF bacterianos en comparación con los demás sitios de estudio. Al evaluar la riqueza y diversidad de la comunidad, el sitio DT-agricultura presentó los mayores valores de ambos estimadores.

Conclusiones: Las conclusiones basadas en la medición de la abundancia, diversidad y estructura de las comunidades microbianas en el suelo bajo diferentes regímenes del uso de la tierra actuales durante la temporada seca y húmeda, indican que el manejo del bosque (particularmente su conversión a sistemas productivos para ganadería o agricultura) produce importantes modificaciones en la diversidad y estructura de las comunidades microbianas. En este sentido, el impacto debido al uso intensivo del suelo en el Chaco árido de Córdoba debe ser evaluado y valorado antes de que se pierdan indefectiblemente las funciones del suelo, afectando los servicios ecosistémicos asociados.

MI 100

0230 - SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE AISLAMIENTOS DE *BOTRYTIS SP.* FRENTE A FUNGICIDAS COMERCIALES

MACHUCA, Laura Marcela[1] | **ACUÑA OJEDA, Maria Florencia** [2] | ALFARO, Esteban[2] | CANTEROS, Karen Anthonela[2] | GÓMEZ, Johana[2] | SPAGNOLO, Lorena Cecilia[2] | DIETZ, Rocio Milagros[2]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS - UNIVERSIDAD DE LA CUENCA DEL PLATA (IDIC - UCP) / CONICET [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS - UNIVERSIDAD DE LA CUENCA DEL PLATA (IDIC - UCP) [2]

Introducción y Objetivos: *Botrytis cinerea* es un hongo filamentoso, fitopatógeno causal del "moho gris" en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Este microorganismo es uno de los responsables de la disminución de la cantidad de fruta cosechada. El propósito del presente trabajo fue evaluar la susceptibilidad in vitro de tres aislamientos de *Botrytis sp.* frente a fungicidas de uso habitual para el manejo de las enfermedades en horticultura, y a su vez, establecer el tipo de diferencia estadística en su desempeño.

Materiales y Métodos: Los aislamientos fúngicos, A, B y C, provenientes de plantas de tomate con síntomas compatibles con la enfermedad, fueron cedidos por el Laboratorio de Sanidad Hortícola-Estación Experimental Agropecuaria-INTA, Bella Vista, Corrientes. Los fungicidas utilizados fueron Amistar Top y Daconil 72F de Syngenta Agro S.A., Bellis de BASF Arg. S.A. y Consist de Bayer. La susceptibilidad fue evaluada empleando medidas de concentración inhibitoria mínima (CIM) y fungicida mínima (CFM), expresadas en µg/mL. Para hallar la CIM, se empleó la técnica de dilución en caldo, tomando como base el estándar M38-A del Clinical and Laboratory Standards Institute, reemplazando el medio de cultivo por caldo Sabouraud y variando la temperatura de incubación a 23 ± 1ºC. Para la determinación de la CFM, se transfirieron 20 µL de cada tubo que no mostró crecimiento visible, del último tubo con crecimiento visible y del control positivo, a placas de Petri con Agar Sabouraud. Estas fueron incubadas a 23 ± 1ºC hasta observar crecimiento en la placa correspondiente al control positivo. La CFM fue la mínima concentración del fungicida que no mostró crecimiento en placa o donde este fue menor a tres colonias. Para establecer el tipo de diferencia estadística, se utilizó el método de Kruskal-Wallis, para los valores de CIM y CFM, por separado.

Resultados: Los valores hallados para CIM y CFM (µg/mL), fueron los siguientes, respectivamente: para *Botrytis sp.* A: Daconil 72F (1; 1), Amistar Top (4; 8), Bellis (0,5; Sin determinar (SD)), Consist (32; SD); para *Botritys sp.* B: Daconil 72F (2; 2), Amistar Top (0,5; SD), Bellis (0,0625; SD), Consist (>64; SD); y

para *Botrytis sp.* C: Daconil 72F (2; 4), Amistar Top (16; 64), Bellis (<0,03125; SD), Consist (>64; SD). Según la prueba de Kruskal-Wallis, se estableció que no existen diferencias estadísticamente significativas (p <0,05), tanto entre los valores de CIM (p= 0,263) como entre los de CFM (p= 0,165).

Conclusiones: Si bien no existen diferencias estadísticamente significativas, se destaca el efecto biocida de Daconil 72F para el tratamiento del hongo. Por su parte, Amistar Top sería también efectivo para su control; mientras que Bellis, dentro del rango de concentraciones ensayadas, solo demostró un efecto biostático frente a los aislamientos. A su vez, Consist tuvo un desempeño menor ante las tres cepas estudiadas. Finalmente, podría sugerirse a Daconil 72F como fungicida para el control del fitopatógeno durante el manejo de la enfermedad.

MI 101

0248 - ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE MOLÉCULAS SEÑAL EN RIZOBACTERIAS AISLADAS DE LA RIZOSFERA DE *CICER ARIETINUM* L.

FORESTO, Emiliano | NIEVAS, Fiorela Lujan | GIORDANO, Walter Fabian | BOGINO, Pablo Cesar

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO-DPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR- FCEFQYN

Introducción y Objetivos: El garbanzo (*C. arietinum* L.) es una de las legumbres de cultivo invernal más importante. En el mundo se cultivan aproximadamente 10 millones de hectáreas. Razones de índole económica, ambiental y sanitaria, justifican e incluso exigen la búsqueda de mecanismos que permitan un adecuado manejo sustentable de los cultivos. Uno de los procesos de comunicación celular más estudiado entre bacterias corresponde al proceso de quorum sensing (QS). Los sistemas de QS dependen de la síntesis y secreción de señales químicas, las cuales se acumulan en función del crecimiento poblacional, alcanzando un umbral de concentración que permite la regulación coordinada de la expresión de genes y por lo tanto de la fisiología bacteriana. El objetivo de esta investigación estuvo orientado a evaluar la presencia de los mencionados mecanismos de comunicación en rizobacterias asociadas a *C. arietinum* a través de la detección de moléculas señal de QS.

Materiales y Métodos: En primer lugar fueron realizados recuentos de bacterias totales en suelo entero y rizosferico de garbanzo. Los recuentos bacterianos fueron mayores en la zona del suelo rizosférico respecto del suelo entero, poniendo en evidencia el denominado "efecto rizosférico". Los miembros más abundantes de la comunidad bacteriana asociada a las raíces de garbanzo fueron aislados de las placas de mayor dilución en la técnica de recuento. De esta manera, una colección de aislamientos nativos de aproximadamente 100 cepas fue obtenida de las placas de AN. La capacidad de producción de moléculas de QS de tipo acil homoserin lactonas (AHLs) con longitudes de cadena acilo corta y larga fue evaluada mediante bioensayos utilizando los microorganismos sensores *C. violaceum* CV026 y *A. tumefaciens* NTL4 (pZLR4), respectivamente. Resultados positivos para AHLcc fueron visualizados por la presencia de un halo violeta alrededor de los pocillos de inoculación de los sobrenadantes de las bacterias ensayadas, debido a la producción de violaceína por parte de CV026. La detección de AHLcl pudo observarse por la formación de un halo de color azul alrededor de la colonia ensayada debido al hidrólisis de X-gal generado por la cepa NTL4 en respuesta a la presencia de estas moléculas señal.

Resultados: El 30% de las bacterias aisladas de la rizósfera de garbanzo fueron positivas para la producción de AHLs. De estas un 2% resultaron positivas exclusivamente para AHLs de cadena corta, un 23% positivas para AHLs cadena larga y un 5% de las cepas fueron positivas para AHLs de cadena corta y larga. Resulta interesante destacar el rol de la planta en el reclutamiento de diferentes tipos de comunidades asociadas a sus raíces, y de las capacidades de producción de moléculas señal.

Conclusiones: De acuerdo a lo observado, se desprende que las comunidades rizosféricas albergan aproximadamente un 30 % individuos capaces de sintetizar moléculas de QS, mientras que el resto de los individuos podrían tomar ventajas mediante su utilización para comunicarse a expensas de la síntesis de otros o bien mediante su degradación como mecanismo nutricional o competitivo para ocupancia de nicho.

MI 102

0257 - EFECTO DE INOCULANTES MIXTOS SOBRE LA CALIDAD NUTRICIONAL Y MICROBIOLOGICA DE ENSILAJES DE ALFALFA

AGOSTO, Maria Emilia | GARCIA, Gisela | CAVAGLIERI, Lilia | DOGI, Cecilia

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO / DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA / FACULTAD DE EXACTAS

Introducción y Objetivos: El ensilaje es un método ecológico y económico de conservación de forrajes húmedos, utilizado para mejorar la conservación y disponibilidad de alimento en épocas críticas de producción.

La alfalfa es una especie difícil de ensilar debido a su bajo valor de carbohidratos hidrosolubles, mayor contenido de proteína y una alta resistencia a la disminución del pH. El objetivo fue aplicar cultivos mixtos de bacterias lácticas (BL) en ensilajes de alfalfa para cumplir con diferentes propósitos: mejorar la fermentación y la digestibilidad del material ensilado e inhibir microorganismos indeseables en este ecosistema.

Materiales y Métodos: Estudios previos permitieron seleccionar BL por su velocidad de reducción del pH, capacidad de inhibir hongos toxicogénicos y bacterias patógenas. A partir de esta selección se formularon dos MIX de BL para ser ensayadas en microsilos. MIX 1: *L. plantarum* RC015; *L. acidophilus*RC020 y *L. rhamnosus* RC007. MIX 2: *Pediococcus acidilactici* RC002; *P. acidilactici* RC003 y *L. plantarum RC018*. Cada cepa creció por separado en caldo MRS, se centrifugó, lavó y resuspendió en solución fisiológica a una concentración de 1x106 UFC/ml. Se armaron silos de 2 Kg de alfalfa picada en bolsas de polietileno y cerradas al vacío. Los silos fueron inoculados con el MIX1 o el MIX 2 o con solución fisiológica sola, para los silos controles. Los silos se mantuvieron a temperatura ambiente y se tomaron muestras a los días 7, 30 y 90 post ensilajes para recuento de hongos y levaduras y análisis físicoquímicos (pH, materia seca, cenizas, fibra detergente neutra, fibra detergente ácida, proteína bruta). A los 90 días los silos fueron expuestos al aire durante 10 días para medir la estabilidad aeróbica de los mismos.

Resultados: El pH disminuyó rápidamente en los silos inoculados; a partir del día 7 se observó una diferencia estadísticamente significativa entre inoculados y control, la cual se mantuvo a lo largo de todo el ensayo. Los silos inoculados mostraron una reducción en el valor de fibra detergente neutra (parámetro relacionado a material menos digestible) a partir de los 30 días post ensilaje, con respecto al control. La inoculación con ambos MIX disminuyó el crecimiento de hongos potencialmente toxicogénicos en ensilaje de maíz pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. Luego de la apertura del silo, la temperatura interna de los silos controles siempre estuvo más de dos grados por encima de la temperatura ambiente, no así en los silos inoculados donde se mantuvo igual a la temperatura ambiente. Este dato junto con un notorio incremento en el pH (8.7) y en el recuento de hongos y levaduras, demuestran un deterioro aeróbico intensivo en los silos controles respecto de los inoculados.

Conclusiones: Los MIX ensayados muestran su potencial para ser utilizados como inoculantes en ensilado de alfalfa ya que mejoran la fermentación, digestibilidad y calidad microbiológica de los mismos, a la vez que mantienen la estabilidad aeróbica luego de la apertura del silo.

MI 103

0277 - PRESENCIA DE *XANTHOMONAS ARBORÍCOLA* EN DIFERENTES ESTADOS FENOLÓGICOS DEL NOGAL – CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN BACTERIANA RESPONSABLE DE LA BACTERIOSIS Y NECROSIS APICAL DEL NOGAL

MARANGI, Maria Julia[1] | TEMPERINI, Carolina Virginia[2] | FERNANDEZ, Diana[3] | PARDO, Alejandro Guillermo[4] | **POSE, Graciela Noemí** [4]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO NEGRO - CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO NEGRO [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [3]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [4]

Introducción y Objetivos: La bacteriosis (BN) y la Necrosis Apical Marrón (NAM) son enfermedades del nogal que afectan a los frutos producidas por *Xanthomonas arborícola pv. juglandis*. En el último caso, los géneros fúngicos micotoxicogénicos *Fusarium* y *Alternaria* están también involucrados. Ambas producen importantes pérdidas económicas ya que provocan la caída prematura de frutos, además de afectar la calidad. Si bien casos de BN fueron ampliamente reportados, durante 2013-2014 se registraron caídas prematuras de nueces en plantaciones del Valle Medio de Río Negro, reportándose NAM por primera vez en el país. El objetivo del trabajo fue determinar la presencia de *X. arborícola* en los diferentes estados fenológicos del nogal y caracterizar la población bacteriana, estudios no realizados previamente en nuestro país.

Materiales y Métodos: Se realizaron dos muestreos anuales (2016, 2017) en plantaciones de Luis Beltrán, desde yemas y amentos en reposo invernal, hasta frutos inmaduros. Se analizó la flora superficial e interior de cada órgano. Los aislamientos se realizaron en los medios Luria Bertani (bacterias) y Agar Papa Dextrosa suplementado con Cloranfenicol (0.1g/L) (hongos). Las colonias sospechosas de ser *Xanthomonas* fueron sembradas en un medio diferencial para dicho género, Xan-D. La identidad de las mismas se confirmó mediante técnicas moleculares. Las extracciones de ADN se realizaron utilizando el kit "DNeasy blood and tissue mini kit" (Qiagen) con un protocolo de pre-tratamiento para bacterias Gram negativas. El ADN genómico extraído se cuantificó utilizando un fluorómetro Qubit 2.0 (Life Technologies). Se realizó la amplificación (PCR) y secuencia de los fragmentos amplificados con los primers especie específicos para *X. arborícola* XarbQF y XarbQR (gen qumA - quinato deshidrogenasa). La caracterización de la población bacteriana se realizó mediante pruebas morfológicas (tinción de Gram, determinación de pigmentos en Agar F), fisiológicas (crecimiento en Agar Nutritivo a 35°C y conteniendo un 3% NaCl), bioquímicas (catalasa, oxidasa, producción de indol, reducción del nitrato) y nutricionales (hidrólisis de almidón, esculina y tween 80, digestión de gelatina y caseína, actividad ureasa).

Resultados: *X. arborícola* y *Alternaria sp.* se aislaron en todos los estados fenológicos, excepto en flores femeninas y estigmas. El 81% de los aislamientos resultaron ser *X. arborícola*, confirmándose la identidad del patógeno. La población bacteriana resultó ser Gram negativa, catalasa positiva, oxidasa negativa. No produjo pigmentos en Agar F, creció débilmente en Agar Nutritivo a 35°C y toleró un 3% de NaCl. Posee actividad lipolítica y capacidad para hidrolizar almidón y esculina, digerir gelatina y caseína. No posee actividad ureasa y no se observó producción de indol, ni de nitratos.

Conclusiones: A partir del estudio se comprobó la fase de dormancia de *X. arborícola* en el interior de órganos florales durante la época invernal. Los patógenos están presentes de manera cíclica en las plantaciones.

MI 104
0338 - BACTERIAS ESPORULADAS AEROBIAS ASOCIADAS CON POLEN APÍCOLA

ALIPPI, Adriana Mónica [1] | FERNÁNDEZ, Leticia Andrea[2] | LÓPEZ, Ana Claudia[3]

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE FITOPATOLOGÍA (CIDEFI), FACULTAD DE CS. AGRARIAS Y FORESTALES, UNLP [1]; LABORATORIO DE ESTUDIOS APÍCOLAS, DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR [2]; CENTRO DE INVESTIGACIONES DE FITOPATOLOGÍA (CIDEFI) - FACULTAD DE CS. AGRARIAS Y FORESTALES - UNLP [3]

Introducción y Objetivos: El polen apícola es el resultado de la aglutinación del polen de flores con néctar y sustancias salivares de las abejas, recolectado y transportado por las mismas a la colmena. Este polen es un producto natural que queda expuesto a las condiciones ambientales, por lo que contiene una variada microbiota representada principalmente por lactobacilos, levaduras y bacterias esporuladas procedentes de las mismas abejas, de las superficies florales, de otros insectos o de las prácticas apícolas. Las especies de los géneros *Bacillus* y *Paenibacillus*, entre otros, son las citadas con mayor frecuencia en miel, larvas y abejas adultas. Muchos representantes son ubicuos y, entre ellos, se encuentran especies patógenas como *Paenibacillus larvae*, agente causal de la enfermedad de las larvas de abejas denominada loque americana y *Bacillus cereus sensu lato* y *Bacillus megaterium* potencialmente enterotóxicos para el hombre. El objetivo del presente trabajo fue identificar a las especies esporuladas aerobias presentes en la microbiota del polen.

Materiales y Métodos: Las muestras de polen fresco obtenido directamente de trampas de apiario, sin ningún tipo de procesamiento, fueron diluidas en buffer fosfato salino pH 7,2 (1 g en 10 ml); luego de un filtrado por Whatman # 3, se centrifugaron a 9.500 X g durante 30 minutos, eliminando sobrenadante y dejando 3 ml del fluido que se sometió a shock térmico (80 °C -15 min). Alícuotas de 100 µl se sembraron por triplicado en MYPGP adicionado con ácido nalidíxico y pipemídico para el aislamiento de *P. larvae*; en PEMBA para el aislamiento de *Bacillus* del grupo cereus y en Hicrome Bacillus agar para la diferenciación de otras especies. A partir de 25 muestras de polen de distintos orígenes geográficos de la Argentina se identificaron 65 aislamientos bacterianos que se separaron por morfología de las colonias desarrolladas en MYPGP, PEMBA y Hicrome Bacillus agar, reacción de catalasa, observación microscópica de células vegetativas, esporas y presencia de glóbulos lipídicos en el citoplasma. Los distintos grupos bacterianos se identificaron a nivel de especie mediante el análisis de los polimorfismos del gen 16s rRNA por la técnica de PCR/RFLP amplificando el ADN genómico total mediante los cebadores 27f/1492r y posterior incubación con las endonucleasas *Alu*I, *Hae*III, *Cfo*I y *Taq*I.

Resultados: Las especies más frecuentes fueron *B.cereus sensu stricto* (29%); *Bacillus subtilis* (17%), *B. megaterium* (15%) y *P. larvae* (9%) y, en menor proporción *Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus coagulans, Bacillus pumilus, Bacillus thuringiensis, Lysinibacillus sphaericus, Paenibacillus alvei, Paenibacillus polymyxa* y *Rummeliibacillus stabekisii*.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el polen contiene una microbiota similar a la de la miel pero con características propias pudiendo vehiculizar agentes causales de enfermedades en las abejas, debido a la presencia de *P. larvae*, como también enfermedades transmisibles por alimentos, debido a la presencia de *B. cereus* y *B. megaterium*.

MI 105
0369 - IMPACTO DE DOS CULTIVOS DE COBERTURA Y DE SU INOCULACIÓN CON DOS RIZOBACTERIAS BENÉFICAS SOBRE EL APORTE DE BIOMASA Y LA DIVERSIDAD ESTRUCTURAL DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS EDÁFICAS

ESCOBAR ORTEGA, Jhovana Silvia[1] | AGUILAR VASQUEZ, Noemi Nancy[2] | AVILA, Teresa[2] | **GARCÍA DE SALAMONE, Inés Eugenia**[3]

CONICET [1]; CENTRO DE INVESTIGACIONES FITOECOGENÉTICAS DE PAIRUMANI, COCHABAMBA BOLIVIA. [2]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA AGRÍCOLA, FAUBA [3]

Introducción y Objetivos: el cultivo de soja es el principal cultivo de renta de la argentina, pero deja al suelo expuesto a una acción erosiva. la inclusión de cultivos de cobertura (cc) y la inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (pgpr) constituyen alternativas tecnológicas para favorecer la sustentabilidad del sistema, pero es preciso analizar los impactos sobre las comunidades microbianas edáficas (cme) de este manejo agrícola.

Materiales y Métodos: se condujo un ensayo en lote productivo con diseño factorial en parcelas divididas y bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. se evaluaron los efectos de la inoculación combinada de dos cc con las pgpr: azospirillum brasilense y pseudomonas fluorescens sobre la producción de biomasa y la diversidad estructural de las cme asociadas. se establecieron dos niveles de fertilización 0 y 7-40-0-5 (n-p-k-s). en parcelas principales y secale cereale var. quehué y avena sativa var. aurora y un testigo sin cc en las subparcelas. Los tratamientos sin y con aplicación a la siembra de pgpr se ubicaron en sub subparcelas. Se determinó producción de biomasa aérea en macollaje, encañazon y llenado de grano. Muestras de suelo hasta 20cm de profundidad se obtuvieron en macollaje para evaluar la diversidad estructural de las cme. Extractos de DNA total del suelo rizosférico fueron usados como molde para la amplificación por pcr del gen 16s arnr con los primers 27f (marcado con 6-carboxifluoresceina) y 1392r. Mediante la restricción de los productos de amplificación con la enzima mspi se obtuvieron 23 fragmentos terminales de restricción (t-rfs) diferentes. La diversidad estructural de las cme de los tratamientos aplicados se caracterizó mediante análisis multivariado de los perfiles polimórficos t-rflp y por el índice de diversidad de shannon (h).

Resultados: la inoculación solo incrementó significativamente la biomasa aérea de centeno, mientras que la fertilización aumentó significativamente la producción de ambos cc. el análisis discriminante de los t-rflp mostró que la estructura de las cme asociadas a la rizosfera de los cc estuvo determinada por la inoculación, observándose diferencias significativas entre centeno y avena, pero sin mostrar efectos en el índice h. las cme del tratamiento testigo sin cc mostraron una menor abundancia relativa y solo aquellas asociadas al centeno inoculado presentaron mayor abundancia respecto a este cc sin inocular. ambos tratamientos de inoculación presentaron los mismos t-rfs pero con abundancias relativas diferentes.

Conclusiones: la sustentabilidad de sistema soja-cc puede ser favorecida cuando se utiliza centeno porque hay respuesta positiva a la inoculación con pgpr que permite reducir el aporte de fertilizante y además la diversidad estructural de las cme no se ve alterada significativamente.

MI 106

0390 - EFECTO DE UN INOCULANTE EN LA CALIDAD FERMENTATIVA EN EL ENSILADO DE MAÍZ

FOCKE, María Belen | ESCALANTE, Jessica Rocío | DALMASSO, Lucas Pablo | **GALLACE, Maria Eugenia**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Introducción y Objetivos: El ensilaje de maíz es una de las reservas forrajeras más importantes en el mundo, donde la práctica de adición de inóculos se utiliza para mejorar la calidad de los ensilados. La Facultad de Agronomía de la UNLPam realizó la cruza entre *Zea mays* x *Zea diploperennis* donde se derivaron líneas endocriadas de maíces con características forrajeras, originando la variedad *Zea mays* L. Elena-UNLPam. Esta es una variedad de ciclo largo, de vigoroso crecimiento inicial, con numerosos macollos fértiles y con buen comportamiento sanitario durante el ciclo de cultivo. Brindar información científica sobre el comportamiento del proceso del ensilaje de esta nueva variedad, puede dar una nueva opción tecnológica para los productores agropecuarios. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del uso de un inoculante biológico sobre la calidad fermentativa, estabilidad aeróbica y composición microbiana del ensilado de maíz (*Zea mays* var. Elena UNLPam).

Materiales y Métodos: Se elaboraron 36 microsilos de 850 cm_3, a la mitad de los microsilos se utilizó un inoculante comercial (I) compuesto por *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus salivarius* y *Enterococcus faecium*.La otra mitad no se inoculó (NI). Los microsilos sellados se dispusieron en oscuridad y temperatura ambiente planificando la apertura de 3 repeticiones por tratamiento al día 2, 4, 8, 16, 32 y 64. En cada apertura se midió pH y temperatura del ensilado, se determinó contenido de Materia Seca (MS) al inicio y fin del ensayo, y al día 64, se cuantificó el número de levaduras, mohos, bacterias mesófilas aerobias y bacterias lácticas. Los datos fueron analizados mediante ANOVA y las medias con LSD de Fisher ($p<=0,05$).

Resultados: La variación de la temperatura a lo largo del ensayo no mostró diferencias entre los tratamientos, sí se encontró diferencias significativas en el pH a partir del día 4 y hasta el final del ensayo, siendo significativamente mayor en el tratamiento NI que en I. No hubo pérdida significativa de MS a lo largo del proceso en ningún tratamiento. En el tratamiento NI hubo un aumento del 75,05 % de UFC de bacterias mesófilas aeróbicas y un aumento en el recuento de mohos y levaduras del orden del 96,41 % y del 84,21 % respectivamente. El nivel de bacterias lácticas se incrementó un 75.07% con la aplicación de microorganismos, siendo significativamente mayor que en NI.

Conclusiones: Se puede concluir que el agregado de inoculante mejoró la calidad fermentativa del ensilado y que el *Zea mays* var. Elena UNLPam es una buena alternativa para su utilización como reserva forrajera.

CAM - Microbiología ambiental

MI 107

0113 - INNOCUITY AND PHYLOGENETIC ANALYSES OF LACTIC ACID BACTERIA FROM RAW BUFFALO MILK IN BRAZIL

MERKER BREYER, Gabriela | NORONHA ARECHAVALETA, Nathasha | DE SOUZA DA MOTTA, Amanda

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Introduction and objectives: Probiotics are microorganisms that confer benefits to the host when consumed in adequate amounts, according to the Food and Agricultural Organization (FAO). The probiotic activity is usually associated to lactic acid bacteria (LAB), which can be found in many sources, such as plants, meat and milk. Meanwhile, buffalo production is increasing worldwide as well as the consumption of its derivatives; however, there is still a gap on probiotic potential of LAB isolated from raw buffalo milk. Therefore, the current work aims to screen for novel LAB in raw buffalo milk and compare them with other LAB already described in literature.

Materials and methods: We analysed 62 strains isolated from raw buffalo milk samples retrieved from cooling tanks in two dairy farms in Rio Grande do Sul (Brazil) by Gram and catalase activity. The isolates were identified by MALDI-TOF/MS, and a total of 11 strains were selected for the further analyses, as they are considered probiotic candidates according to the current literature and the Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA). Those isolates were analysed by partial 16S rRNA sequencing, and the data generated was used to build a phylogenetic tree comparing those strains with other four LAB isolated from buffalo milk already described in literature. To assess the innocuity of the 11 strains, we analysed their haemolytic and gelatinase activities. Additionally, their susceptibility to ten antibiotics (clindamycin, ceftriaxone, chloramphenicol, vancomycin, tetracycline, ciprofloxacin, gentamycin, erythromycin, ampicillin and penicillin G) was assessed by disc diffusion test. Finally, the presence of five virulence genes (cylA, cpd, agg, asa1, and ace) was assessed by polymerase chain reactions (PCR).

Results: We identified four species of LAB that are considered probiotic candidates according to the current literature, being: 4 Lactococcus lactis, 4 Lactobacillus paracasei, 1 Lactobacillus rhamnosus and 2 Leuconostoc mesenteroides. None of them showed haemolytic and gelatinase activity. All isolates showed resistance to at least one antibiotic; however some of these resistances are considered intrinsic, being well established in literature and hardly transferable to other bacteria. The PCR for virulence genes demonstrated that cpd, agg, asa1 and ace were absent in all isolates, however cylA was detected in one strain. The phylogenetic tree based on partial 16S rRNA sequences demonstrated that the 11 isolates were grouped according to their genera, and indicated that isolates from the same source are more closely related than the same species from other studies and sources.

Conclusions: Those results highlight the importance of studying buffalo milk as a source of novel probiotic candidates, as 6 LAB demonstrated to be innocuous based on our assays. Further studies are necessary to ensure their probiotic activity, so they can be applied in food industry in the future.

MI 108

0127 - CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE ZONAS DEGRADADAS EN EL MONTE AUSTRAL

FERNÁNDEZ, Leticia Andrea [1] | HERNÁNDEZ, Jorge[2] | RODRÍGUEZ, María Agustina[1] | ZALBA, Pablo[3] | BUSSO, Carlos[4]

LABORATORIO DE ESTUDIOS APÍCOLAS [1]; LABORATORIO DE REHABILITACIÓN Y RESTAURACIÓN ECOLÓGICA DE ECOSISTEMAS ÁRIDOS Y SEMIÁRIDOS (LARRE [2]; LABORATORIO DE SUELOS SALINOS Y SÓDICOS DEL DPTO. DE AGRONOMÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR [3]; LABORATORIO DE ECOLOGÍA DEL DPTO. AGRONOMÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR (UNS). [4]

Introducción y Objetivos: La degradación extrema del suelo en las zonas áridas se conoce como desertificación. Es uno de los problemas ecológicos más importantes que enfrentan muchos países y es uno de los principales desafíos ambientales en Argentina. En este contexto, se planteó un proyecto de restauración ecológica de una zona degradada del Monte Austral. Puntualmente en este trabajo se caracterizaron

microbiológicamente los ambientes degradados así como los tratamientos de restauración propuestos y el ecosistema de referencia de la zona de estudio.

Materiales y Métodos: El ensayo se realizó en camas de siembra de 0,5 m ancho por 4 m largo, con una profundidad de 0,4 m en una explanada (E). Los tratamientos de restauración (3 repeticiones) consistieron en la siembra directa de especies nativas en las mencionadas camas con el agregado de suelo superficial (hasta 10 cm): (T) Cama de siembra + suelo superficial; (S) Cama de siembra + suelo superficial + siembra de mezcla de semillas pre-tratadas; (C) Testigo sin agregado de suelo superficial. Este ensayo se ubicó cerca de un sitio de referencia (R) que ecológicamente no está disturbado. La caracterización microbiológica consistió en: 1) Recuentos de microorganismos: por técnica de las diluciones decimales con 10 g de suelo en 90 ml de NaCl 0,85%, como primera dilución y luego diluciones en tubos con 9 ml del mismo diluyente. Posteriormente se realizó la siembra de las diluciones de suelo en placas de Petri con medio Hongos y Levaduras (Britania) y con Agar Nutritivo (Britania). Las placas se incubaron en estufa a 25±2 °C para hongos y levaduras y a 35±2 °C para bacterias; 2) Actividad microbiana: por técnica de la respiración incubando herméticamente muestras de 20 g de suelo en un recipiente con 20 ml de NaOH 0,2N, por 7 días a 30 °C. Luego se tomó una alícuota de 10 ml de cada recipiente y se le agregó BaCl2 hasta observar un precipitado y una gota de solución alcohólica de fenolftaleína (color rosado). Se tituló con HCl 0,2N hasta viraje de color blanco o ausencia de color. Con los datos de la titulación se calculó mg de CO2 desprendidos cada 100 g de suelo por día. Se analizaron los datos con Infostat (2008), se aplicó análisis de varianza y cuando correspondía análisis de DMS.

Resultados: Los recuentos microbianos demostraron que la E es el sitio con menor número de ambos grupos de microorganismos. El recuento de bacterias fue estadísticamente diferente solo entre E y R, mientras que todos los tratamientos no se diferenciaron entre sí y fueron similares a R. Con respecto a los hongos y levaduras, su recuento fue mayor y estadísticamente igual en R, T y S. El C y la E presentaron menores recuentos de este grupo de microorganismos. La actividad microbiana en (R) fue moderadamente baja: entre 10-15 mg de CO2 cada 100 g de suelo por día. Aún así, fue el suelo con mayor actividad respiratoria comparando con la E y los tratamientos de restauración (T, S y C) donde se registró una condición de respiración muy baja (entre 0 y 3 mg de CO2 cada 100 g de suelo por día).

Conclusiones: La incorporación de suelo superficial sano en las camas de siembra (T), la germinación y el establecimiento de plantas nativas (S), como estrategias de rehabilitación ecológica, son medidas efectivas de restauración. Estas estrategias demostraron el aumento en los recuentos y la actividad de los microorganismos de esos suelos, condición necesaria para que los tratamientos de restauración mencionados sean efectivos en zonas degradadas.

MI 109

0133 - RELEVAMIENTO EN HUERTAS DE MAR DEL PLATA DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* CON RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

PELLEGRINI, María Celeste [1] | GONZÁLEZ PASAYO, Ramón Alejandro[2] | PONCE, Alejandra[1]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA, FACULTAD DE INGENIERÍA, INCITAA [1]; INTA BALCARCE, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL, GRUPO DE SANIDAD ANIMAL [2]

Introducción y Objetivos: La contaminación microbiana de vegetales y hortalizas frescas, agua de riego y suelo de cultivo, son consideradas las principales fuentes que ocasionan la pérdida de la inocuidad de alimentos. El uso excesivo y/o inadecuado de los antimicrobianos en salud humana, sanidad animal y producción agroalimentaria han acelerado notablemente el desarrollo natural de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos. El objetivo del presente trabajo fue realizar el primer relevamiento de cepas de Escherichia coli resistentes a antibióticos en huertas del cinturón Frutihortícola de Mar del Plata.

Materiales y Métodos: Se seleccionaron 8 huertas al azar; y se tomaron muestras de diferentes vegetales, abono orgánico y suelo de cultivo. También se tomaron muestras de agua de riego que fueron posteriormente filtradas con membrana. Las muestras se sembraron en placas con agar McConkey, EMB y Chromobrit. En todos los casos, la confirmación de E. coli se determinó a partir de la amplificación por PCR de la subunidad ribosómica 16s y el gen uiadA de la glucuronidasa. Posteriormente se estudió la susceptibilidad de las cepas frente a los antibióticos Amoxicilina-Acido clavulánico (20/10 µg), Ampicilina (10 µg), TMS (25 µg), Tetracicilina (30 µg), Acido nalidíxico (30 µg), Imipinem (10 µg) y Meropenem (10 µg) por la técnica de difusión en agar, según EUCAST 2019

Resultados: En el 75 % de las muestras vegetales analizadas, hubo presencia de E. coli. Se aislaron en total 21 cepas procedentes de: lechuga manteca [1], acelga [2], espinaca [2], lechuga morada [4], lechuga arrepollada [1], hinojo [1], rúcula [1], repollo [1], remolacha [1], lechuga criolla [1], suelo de cultivo [4], cama de pollo [1]y agua de riego [1]. El 67 % de las cepas de E. coli mostraron resistencia al menos a un antibiótico. Las cepas de E. coli aisladas de lechuga arrepollada, hinojo, acelga y lechuga morada, presentaron resistencia a Amoxicilina y Ampicilina y E. coli aislada de acelga presentó resistencia a Amoxicilina y Acido nalidíxico. Por otro lado, los aislamientos de cama de pollo, agua de riego, lechuga morada, lechuga criolla y espinaca presentaron resistencia a Ampicilina y las cepas de E. coli obtenidas de acelga, espinaca, rúcula y repollo fueron resistentes a Amoxicilina al igual que la muestra de suelo de repollo que presentó además resistencia intermedia a la Ampicilina.

Conclusiones: En este primer relevamiento del cinturón Frutihortícola de Mar del Plata se encontraron cepas de E. coli con resistencia a diferentes antibióticos de uso humano. A partir de estos resultados, surge la necesidad de profundizar y extender el monitoreo de cepas resistentes con el fin de tener un conocimiento completo de la región, evaluar cuál es la vía de entrada de estas cepas y tomar medidas de control para evitar la contaminación ambiental y el riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos.

MI 110

0143 - ESTUDIO DE LA BIOACUMULACIÓN DE COLORANTES TEXTILES POR PARTE DE LA LEVADURA ANTÁRTICA *DEBARYOMYCES HANSENII* F39A

RUSCASSO, Maria Florencia [1] | BEZUS, Brenda[1] | GARMENDIA, Gabriela[2] | VERO, Silvana[2] | CURUTCHET, Gustavo[3] | CAVELLO, Ivana[1] | CAVALITTO, Sebastián[1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CINDEFI-UNLP) [1]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, DPTO. DE BIOCIENCIAS, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL, UNSAM [3]

Introducción y Objetivos: La industria textil utiliza grandes volúmenes de agua en su proceso de lavado y teñido, por lo que genera efluentes coloreados y con diversos tipos de contaminantes. Una gran variedad de estudios demuestra el efecto tóxico de los colorantes textiles sobre diversos organismos y el medio ambiente circundante al cual fueron vertidos por lo que dichos efluentes requieren un especial tratamiento. El uso de microorganismos para este fin tiene grandes ventajas debido al bajo costo y su bajo impacto ambiental. En especial las levaduras han sido empleadas en forma exitosa para el tratamiento de aguas residuales con colorantes a través de mecanismos de bioacumulación. El principal objetivo de este trabajo es el estudio de la bioacumulación de diversos colorantes por parte de la levadura antártica *Debaryomyces hansenii F39A* durante su crecimiento.

Materiales y Métodos: Los colorantes utilizados: Verde Reactivo 19, (VR-19), Violeta Reactivo 5 (VR-5), Naranja Reactivo 16 (NR-16) y Rojo Reactivo 141 (RR-141) (azoicos); y el Azul Reactivo 19 (AR-19) (antraquinónico) fueron generosamente aportados por la empresa ALCONIC SA. Con cada uno de ellos se preparó una solución stock de 1 g/L esterilizada por filtración. Para el estudio de la bioacumulación se utilizó un medio complejo con 20 g/L de glucosa como fuente de carbono y energía y una concentración de 100 mg/L de colorante. Se tomaron muestras a lo largo del cultivo a fin de determinar el crecimiento de la levadura y los mg/L removidos de colorante, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis. Al finalizar los cultivos se determinó la biomasa a través del método gravimétrico de peso seco.

Resultados: Luego de 48 horas de cultivo, se removió un 95.2%, 97.4% y 96.1% mg/L de los colorantes RR-141, VR-19 y AR-19, respectivamente. El NR-16 y el VR-5, fueron los cultivos que menor acumulación de colorante presentaron, obteniéndose un 73.3% y 89.6% de remoción, respectivamente. Estos resultados se corresponden con las curvas de crecimiento obtenidas, los cultivos que presentaron mayor remoción de colorante fueron aquellos que presentaron mayor biomasa final; 6.65, 5.93, 5.67, 5.32 y 5.01 g/L de biomasa para los cultivos suplementados con VR-19, AR-19, RR-141, VR-5 y NR16, respectivamente. A partir de las curvas de crecimiento fue posible determinar la tasa específica de crecimiento (μ, h^{-1}), para los 5 cultivos suplementados con colorante y para un cultivo biótico, el μ; obtenido fue de 0.018 ± 0.009 h^{-1}, por lo que la presencia del contaminante no afecta al crecimiento de la levadura.

Conclusiones: En este trabajo se demostró la capacidad de la levadura *Debaryomyces hansenii* F39A en crecimiento de acumular varios colorantes reactivos. El uso levaduras en crecimiento como tratamiento para la remoción, puede evitar el proceso de preparación de biomasa por separado para luego se produzca la bioadsorción del colorante.

MI 113

0177 - EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DETERIORANTE DE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DE AMBIENTES EXTERIORES, LA PLATA, BUENOS AIRES

GÁMEZ-ESPINOSA, Erasmo [1] | DEYÁ, Cecilia[1] | BELLOTTI, Natalia[1] | CABELLO, Marta[2]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN TECNOLOGÍA DE PINTURAS (CONICET-CICPBA-UNLP) [1]; INSTITUTO DE BOTÁNICA SPEGAZZINI (FCNYM-UNLP-CICPBA) [2]

Introducción y Objetivos: El deterioro de materiales estructurales por hongos filamentosos se debe a la liberación de ácidos y pigmentos orgánicos, nutrición quimiorganotrófica y crecimiento invasivo. Los ácidos orgánicos forman complejos con iones presentes en los sustratos y las hifas provocan alteraciones mecánicas. Este biodeterioro provoca pérdidas económicas en edificaciones patrimoniales y puede afectar la salud de las personas expuestas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar los atributos deteriorantes de hongos

filamentosos aislados de la Catedral de La Plata (CP) (34º55´S, 57º57´O) y la estación experimental del Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT) (34º50´S, 57º53´O), Buenos Aires, Argentina.

Materiales y Métodos: Los materiales estructurales analizados fueron ladrillo y concreto. El aislamiento fúngico se realizó mediante técnica de hisopado en zonas donde se observó mayor biodeterioro durante el otoño del año 2017. La identificación taxonómica de las cepas aisladas se realizó a partir de características morfológicas y culturales de la colonia. Se determinó la frecuencia relativa de aparición de cada género (FR). La potencialidad biodeteriorante de las cepas se caracterizó mediante secreción de ácidos en medio sólido suplementado con CaCO3 al 1%, liberación de pigmentos y velocidad de crecimiento en medio sólido.

Resultados: En la CP se aislaron 54 cepas identificadas a nivel específico cuando fue posible. *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium* fueron los géneros con mayor FR. *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 2, *Penicillium* sp. 3, *Penicillium* sp. 4 y *Aspergillus niger* fueron las cepas que mostraron un resultado positivo en el ensayo de secreción de ácidos, por lo tanto, en una siguiente etapa se determinó el pH en medio mínimo mineral líquido. En tal sentido, *Penicillium* sp. 2 y *Aspergillus niger* presentaron mayores valores de pH. Por su parte, *Epicoccum nigrum* y la cepa LN3122 presentaron liberación de pigmentos y mayor velocidad de crecimiento. En el CIDEPINT fueron aisladas 15 cepas; las estirpes 3L0503 y 3C32004 presentaron mayor FR. Ningún aislado degradó el CaCO3 y la cepa 3C30505 presentó liberación de pigmentos y mayor velocidad de crecimiento.

Conclusiones: Este trabajo muestra parte de la micobiota presente en la CP y en el CIDEPINT, así como sus potencialidades biodeteriorantes. En una próxima etapa se realizarán estudios enfocados en la conservación preventiva.

MI 114

0185 - COMUNIDAD BACTERIANA EN ESPONJAS MARINAS DE LA PATAGONIA ARGENTINA

SANDOVAL, Natalia Elisa [1] | SCHEJTER, Laura[2] | ALVAREZ, Héctor Manuel[1] | LANFRANCONI, Mariana Patricia[1]

INSTITUTO DE BIOCIENCIAS DE LA PATAGONIA (INBIOP), UNPSJB, CONICET. [1]; LABORATORIO DE BENTOS-INIDEP, CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Las esponjas marinas son organismos filtradores sésiles, que se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo. En ellas, existe una gran variedad de microorganismos asociados que establecen una relación simbiótica con las mismas y representan una excelente fuente de metabolitos bioactivos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la diversidad bacteriana asociada a dos esponjas marinas en la costa patagónica.

Materiales y Métodos: Las esponjas fueron identificadas mediante la observación directa de cada ejemplar junto con el análisis microscópico de las espículas. Para llevar adelante el objetivo planteado se utilizaron metodologías dependientes e independientes de cultivo. Para cultivar las bacterias asociadas a las esponjas marinas, se utilizaron medios que contenían agua de mar y diferentes fuentes de carbono. Posteriormente, los aislados obtenidos fueron identificados por secuenciación del 16S rADN de cada uno de ellos. Las técnicas moleculares independientes de cultivo incluyeron extracción de ADN total de cada esponja, amplificación por PCR del 16S rADN, clonación, generación de dos genotecas de 16S rADN (una por esponja) y obtención de patrones de RFLPs.

Resultados: En la esponja identificada como *Siphonochalina fortis* se obtuvieron 17 cepas, la mayoría de ellas se afiliaron con *Pseudoalteromonas sp*, y en menor proporción fueron identificados aislados que presentaban alta similitud con la secuencia 16S rADN de *Agrococcus jenensis*, *Arthobacter oxydans* y *Bacillus sp.*. Las características morfológicas del segundo ejemplar de esponja marina se adecuan a la descripción de esponjas del género Suberites. En ella, se recuperaron 23 cepas también la mayoría tuvo alta similitud con *Pseudoalteromonas sp.*. Los cuatro aislados bacterianos restantes se afiliaron al género *Vibrio sp*, *Microbacterium profundi Micrococcus luteus* y *Arthobacter oxydans*. Por métodos moleculares cada esponja presentó patrones únicos, ausentes en el otro ejemplar, salvo algunas excepciones presentes en ambas genotecas. Para ambas esponjas, los RFLPs de clones superaron ampliamente en número y variabilidad a los patrones de restricción del 16S rADN de las cepas recuperadas por cultivo.

Conclusiones: El estudio comparativo entre esponjas indica que las bacterias asociadas serían especimen-dependiente salvo algunas excepciones como *Pseudoalteromonas sp.* y *Arthrobacter oxidans* que se detectaron en ambas esponjas. Una gran proporción de los aislados pertenecen al filum Actinobacterias, que ha sido ampliamente reportado y estudiado por su capacidad de producir metabolitos de importancia médica o de interés para la industria farmacéutica, cosmética o petrolera. Como se esperaba, la diversidad obtenida por metodologías moleculares fue considerablemente mayor y diferente a la obtenida por métodos de cultivos. Sin embargo, el aislamiento de bacterias es fundamental para continuar el trabajo dirigido a estudiar las posibles aplicaciones biotecnológicas de metabolitos producidos por las cepas identificadas.

MI 115

0224 - PRESENCIA DE *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* EN RESERVORIOS DOMICILIARIOS DE AGUA POTABLE DE DOS CIUDADES DEL NORESTE DE ARGENTINA

LÖSCH, Liliana Silvina [1] | MOSQUERA, María Silena[2] | DELUCA, Gerardo Daniel[3] | MEDINA, Marcelo Gabriel[3] | MERINO, Luis Antonio[3]

INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL Y FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [1]; FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [2]; INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [3]

Introducción y Objetivos: *Legionella pneumophila* es un patógeno emergente que se puede encontrar en diversos ambientes acuáticos. *Legionella* spp puede colonizar y desarrollar en los sistemas de distribución y almacenamiento de agua. Desde estas fuentes ambientales se debe aerosolizar e inhalar para producir enfermedad, de la que se reconocen dos cuadros clínicos: Enfermedad del Legionario y la Fiebre Pontiac. Las ciudades de Resistencia y Corrientes se encuentran en el noreste de Argentina. El río Paraná es la fuente superficial de captación para el suministro de agua potable para ambas localidades. El objetivo del estudio fue detectar y comparar la prevalencia de *Legionella pneumophila* en tanques de almacenamiento de agua potable de Resistencia y Corrientes, dos ciudades que comparten la fuente de captación de agua.

Materiales y Métodos: El muestreo fue no probabilístico y se tomaron un total de 50 muestras de agua de los depósitos domiciliarios, 30 de Resistencia y 20 de Corrientes. El protocolo utilizado para el aislamiento de *Legionella* fue el cultivo, siguiendo las recomendaciones de la norma ISO 11731: 2017. En todas las muestras de cultivo positivas identificadas como *Legionella* spp., acorde a la normativa internacional, se realizó un ensayo de qPCR con colorante intercalante (Sybr Green). Las dianas genómicas utilizadas fueron el gen *23S rRNA* y el gen *mip* para corroborar el género e identificar *L. pneumophila*, respectivamente.

Resultados: De las 50 muestras de agua analizadas, 14 fueron positivas para *L. pneumophila* (14/50; 28%) para ambas ciudades. Entre las positivas, 11 fueron de Resistencia (11/30; 36.7%) y 3 fueron de Corrientes (3/20; 15%). Además, 3 muestras de Resistencia (3/30; 10%) también fueron positivas para otras especies del género *Legionella*.

Conclusiones: El presente estudio mostró la presencia de *L. pneumophila* y otras especies de *Legionella* en los reservorios domiciliarios de agua potable de Resistencia y Corrientes. Si bien las dos ciudades captan agua para suministro de la misma fuente superficial, no parecen compartir la misma frecuencia y especies de *Legionella*. Este resultado podría estar relacionado con la presencia de cloro libre residual en los tanques de agua. Se requiere analizar un mayor número de muestras, incluida la fuente de agua, para obtener conclusiones más precisas.

MI 116

0232 - AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS AMILOLÍTICOS A PARTIR DE EFLUENTES DE LA INDUSTRIA ALMIDONERA DE LA PROVINCIA DE MISIONES

BARUA, Ramona Celeste | AGUILA, Marina Soledad | VILLALBA, Laura | ZAPATA, Pedro Darío | **KOLMAN, Maria de Los Angeles** | ALVARENGA, Adriana Elizabet

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR – INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES – UNIVERSIDAD NACIONAL

Introducción y Objetivos: La mandioca *Manihot esculenta* Crantz constituye un alimento importante a nivel mundial (FAO). La provincia de Misiones es la principal productora de fécula mandioca de la Argentina. La producción de fécula genera efluentes altamente orgánicos y de naturaleza ácida, con la presencia de glicósidos cianogénicos. En estas condiciones, se espera encontrar bacterias con capacidad para degradar almidón, los cuales pueden tener un alto potencial biotecnológico para la producción de bioetanol.

Materiales y Métodos: Se tomaron muestras de aguas residuales de la planta industrial Almidonera AG (Puerto Rico, Pcia de Misiones), a las cuales se le determinaron parámetros físico-químicos. El aislamiento de microorganismos se realizó mediante diluciones seriadas y siembra en placa utilizando medio Mínimo suplementado con bagazo de mandioca o fécula de mandioca 1% y medio Luria-Bertani (LB). Las colonias seleccionadas fueron caracterizadas macroscópicamente en agar nutritivo sólido a 28 y 37°C mediante observación de la morfología. Además se realizó observación al microscopio con tinción de Gram. La determinación cualitativa de actividad amilolítica de los aislamientos fue determinada en medio sólido conteniendo 1% de fécula o bagazo de mandioca, a 28 y 37°C, cuyos halos de degradación fueron revelados utilizando 0,1% de Lugol.

Resultados: Como resultado, se obtuvieron 93 aislamientos bacterianos, 4 de los cuales mostraron actividad amilolítica, además 16 bacterias mostraron un crecimiento exacerbado en placa, lo que hace presumir que son capaces de utilizar fécula de mandioca como fuente de carbono. La tinción de Gram revelo que la mayoría de los aislamientos seleccionados son Gram negativos (12/20).

Conclusiones: Los análisis cuantitativos revelan que las cepas seleccionadas muestran aptitud para la degradación de residuos provenientes de la industria almidonera, incluyendo bagazo de mandioca. En futuros trabajos, se analizará el potencial uso de estos microorganismos para su uso en la producción de bioetanol.

MI 117

0256 - DESARROLLO DE GREMIOS BACTERIAS POR LA UTILIZACION DE XENOBIÓTICOS COMO FUENTES DE CARBONO Y ENERGÍA

GUTIERREZ, Maximiliano | **PUCCI, Graciela**

CEIMA- UNPSJB

Introducción y Objetivos: Los microorganismos son conocidos como degradadores de un amplio espectro de xenobióticos ambientales. El desecho de antibióticos comprende un riesgo a corto y largo plazo en los seres vivos debido que su presencia en el ambiente, puede llevar a inducir múltiples resistencias en los microorganismos expuestos a ellos. Es importante encontrar métodos por los cuales se pueda generar una completa degradación o desactivación de estos xenobióticos. Uno de los procesos que se ha puesto en estudio es la utilización microbiana por bacterias ambientales, que en muchos casos ya han demostrado capacidad de degradar moléculas complejas de gran tamaño. El objetivo fue la búsqueda de gremios bacterianos presentes en suelo con capacidad de utilizar xenobióticos, Anfotericina, Ciprofloxacina, Norfloxacina y Oxitetraciclina, como fuente de carbono y energía.

Materiales y Métodos: La comunidad bacteriana proviene de un suelo contaminado de larga data con hidrocarburos de la cuenca del Golfo San Jorge. Se realizaron seis cultivos sucesivos en medio mineral con 100 ppm de los antibióticos anfotericina(ANFO), ciprofloxacina(CIP), norfloxacina (NOR) y oxitretraciclina (OTC).Al sexto cultivo fue seguido por densidad óptica y además recuento bacterianos en agar Mueller Hilton con 100ppm del antibiótico. Además fueron cultivadas en medio líquido tripteína de soya con y sin antibióticos (50 ppm) para realizar la extracción de ácidos grasos según el protocolo propuesto por Sherlock MIDI Version 6.0.

Resultados: Los resultados se analizaron utilizando el programa estadísticos PAST3 usando UPGMA y distancia Euclediana.La comunidad presente en el suelo logró desarrollarse en medio mineral con los antibióticos. Las lecturas espectroscópicas arrojaron aumentos de absorbancia en ANFO de 7,5; CIP de 6,7;NOR de 7 y en OTC de 7 veces del valor inicial respectivamente. El recuento en la comunidad de ANFO se observaron $3x10^8$ UFC/ml; CIP de $1,44x10^5$ UFC/ml; NORF de $3x10^5$ UFC/ml; OTC de $3X10^5$ UFC/ml. La coloración de Gram evidenció la presencia en ANFO de bacilos(+), bacilos(-), cocobacilos(−) y cocos(+);en CIP bacilos(−) y cocobacilos (-); en NOR de levaduras, cocobacilos (-), bacilos(−) y cocos(+); en OTC cocobacilos (−) y levaduras. Estos resultados están en concordancia con el análisis de ácidos grasos donde están presentes los marcadores 18:3W6c y 18:2 w6,9cw en las cepas de NORF y OTC, asociados a levaduras; ácidos grasos iso y anteiso en las 4 comunidades asociados a bacterias Gram (+); ácidos grasos OH en las 4 comunidades, asociados a Gram (-).El análisis de clustering mostró una comunidad de ANFO separada del resto. Los otros tres xenobióticos poseen una distancia Euclediana mayor a diez entre ellos

Conclusiones: El suelo presentó microorganismos capaces de desarrollar los antibióticos y de utilizarlos como única fuente de carbono y energía. Los xenobióticos utilizados seleccionaron un gremio bacteriano el cual fue evidenciado por el análisis de clustering, sus ácidos grasos y por la tinción de Gram.

CAM - Microbiología industrial

MI 118

0119 - ACCIÓN SINÉRGICA DE CEL8PA ß-1,4 ENDOGLUCANASA Y BG1PA ß-GLUCOSIDASA DEL AISLAMIENTO NATIVO *PAENIBACILLUS* SP. A59 SOBRE SUSTRATOS MODELO Y BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

SILVINA, Ghio | BRADANINI, María | GARRIDO, Mercedes | ONTAÑON, Ornella | CAMPOS, Eleonora

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO)

Introducción y Objetivos: La bioconversión eficiente de los polisacáridos estructurales de la biomasa, como celulosa y hemicelulosa, es de relevancia para la obtención de bioetanol a partir de residuos agroforestales. En la naturaleza, las enzimas activas sobre carbohidratos (CAZYmas) actúan de manera sinérgica para lograr dicha conversión a azúcares simples fermentables. En el caso de los polímeros de celulosa y glucanos de enlaces mixtos, es fundamental la actividad conjunta de endoglucanasas, exoglucanasas y ß-glucosidasas. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad de la única endoglucanasa de la familia GH8 (Cel8Pa) codificada en el genoma del aislamiento *Paenibacillus* sp. A59, en sinergismo con la única ß-glucosidasa (Bg1Pa) de la familia GH1, para mejorar la conversión a glucosa.

Materiales y Métodos: Las enzimas Cel8Pa y Bg1Pa se expresaron de manera recombinante en *E. coli* utilizando el vector pet28a (6XHis amino terminal) y se purificaron por IMAC. La actividad específica de cada una se determinó sobre varios sustratos comerciales celulósicos y hemicelulósicos. Además se testeó un rango de pH (3 a 9) y temperatura (4 a 50 °C) para definir las condiciones óptimas de reacción. Los principales productos de hidrólisis enzimática sobre celooligosacáridos (COS) lineales y puros se evaluó mediante cromatografía de capa delgada (TLC), para determinar el mecanismo de acción. Por último, el sinergismo entre ambas enzimas se evaluó usando los sustratos modelo ß-glucano de cebada y celulosa cristalina tratada con ácido fosfórico (PASC) así como también biomasas pre-tratadas por extrusión como paja de cebada y mazorca de maíz dulce, cuantificando la glucosa liberada por HPLC.

Resultados: Cel8Pa mostró su máxima actividad en sustratos con enlaces mixtos ß-1,3-1,4, como ß-glucano de cebada (44,5 ± 0,70 IU/mg) y lichenano (44 ± 0,30 IU/mg), aunque también fue capaz de hidrolizar PASC (ß-1,4) (14 ± 0,20 IU/mg). Esto indicó que Cel8Pa presentó actividad tanto endo-ß-1,4-glucanasa (EC 3.2.1.4) como licheninasa (EC 3.2.1.73). Por su parte, Bg1Pa fue activa sobre pNP-ß-D-glucopiranósido (46,8 ± 0,20 IU/mg) y celobiosa (40,2 ± 0,10), indicando actividad ß-glucosidasa (EC 3.2.1.21). Las condiciones óptimas fueron pH 4,5-40°C para Cel8Pa y pH 6,5-30°C para Bg1Pa. Cel8Pa mostró preferencia por los enlaces ß-1,4 internos de los COS con grado de polimerización (DP) mayor o igual a 4, mientras que Bg1Pa hidrolizó COS con DP mayor o igual a 2, liberando glucosa como producto final. Tanto sobre sustratos modelo como biomasa pre-tratada, la concentración de glucosa liberada fue mayor cuando se utilizaron ambas enzimas juntas que de manera separada, confirmando el sinergismo. Además, se comprobó la conversión completa de los COS generados por Cel8Pa a glucosa, luego del agregado de Bg1Pa, excepto en el caso de cebada, donde permanecieron COS sin hidrolizar.

Conclusiones: El uso combinado de la endoglucanasa Cel8Pa y la ß-glucosidasa Bg1Pa de *Paenibacillus* sp. A59 permitió maximizar la conversión de los glucanos presentes en biomasas a glucosa fermentable, con potencial aplicación en la producción de bioetanol lignocelulósico.

MI 119

0182 - SCREENING DE LEVADURAS PARA EL DESARROLLO DE BIOPROCESOS CONSOLIDADOS EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL 2G

CUNHA BOLZICO, Bruna | CARBONI, Victoria | BENZZO, Maria Teresita | SELUY, Lisandro | COMELLI, Raul Nicolas

DEPTO DE MEDIO AMBIENTE; FAC. ING. Y CS. HIDRICAS (FICH) - UNIV. NACIONAL DEL LITORAL (UNL)

Introducción y Objetivos: Los combustibles de origen biológico (biocombustibles) representan una alternativa prometedora frente a la utilización de combustibles fósiles tradicionales (petróleo y carbón). El bioetanol es el principal biocombustible para transporte en el mundo y, en nuestro país, se obtiene a partir de caña de azúcar y, principalmente, maíz (biocombustibles de primera generación). Los residuos agroindustriales de base celulósica representan una fuente abundante y renovable, no compiten con los alimentos ni con la utilización de tierras para uso agrícola y son considerados la fuente más importante a nivel mundial para abastecer la demanda de etanol de segunda generación (2G). El proceso involucra un acondicionamiento de los residuos (temperatura y ácido, habitualmente), seguido de una hidrólisis enzimática de los polisacáridos y, finalmente, la fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* para obtener etanol a partir de un medio que contiene azúcares de 5 y 6 carbonos. Los desafíos actuales incluyen el empleo de levaduras capaces de fermentar eficientemente pentosas, superar los efectos inhibitorios del medio y los costos asociados al agregado de enzimas. El objetivo general del trabajo fue la selección de levaduras con las características deseadas para el desarrollo de "bioprocesos consolidados" (CBP), es decir, procesos que empleen consorcios de microorganismos con todas las características que el proceso demanda. En este caso, se centró el estudio en las pentosas y los inhibidores.

Materiales y Métodos: Se evaluaron metabólicamente 48 levaduras (aislamientos propios a partir de suelos y efluentes agroindustriales), considerando el perfil de azúcares consumidos, velocidad especifica de consumo de pentosas, rendimiento en etanol, naturaleza de los productos finales, inhibición del metabolismo de la xilosa por parte de la glucosa, tolerancia al etanol y respuesta en presencia de inhibidores liberados durante el acondicionamiento del material celulósico (ácido fórmico, acético, levulínico, furfural, HMF, tánico y derivados fenólicos como el gálico).

Resultados: Se identificaron 14 cepas de levaduras capaces de metabolizar eficientemente pentosas (xilosa y/o arabinosa), destacándose dos aislamientos: a) una cepa perteneciente al género *Meyerozyma* (según la secuencia de la región ITS del rDNA), con capacidad de consumir los dos azúcares en anaerobiosis, con velocidades de consumo para la xilosa superiores a lo registrado para glucosa (en la misma cepa), transporte de la xilosa no afectado por la presencia de glucosa en el medio y tolerancia elevada a los inhibidores, b) otra cepa, perteneciente al género *Naganishia*, también con capacidad de consumir los dos azúcares, pero sobresaliendo su excelente respuesta frente a elevadas concentraciones de inhibidores y la capacidad de producir enzimas capaces de hidrolizar la lignina.

Conclusiones: Estas levaduras fueron seleccionadas como plataformas accesorias para el desarrollo de un CBP en la producción de bioetanol 2G.

MI 120

0895 - MECANISMOS DE ACCION DE NANOPARTICULAS DE ORO PARA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA

SILVERO C., María Jazmín[1] | **ROCCA, Diamela María** [2] | ANGEL VILLEGAS, Natalia[3] | BECERRA, María Cecilia[1]

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS.FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. IMBIV-CONICET, [1]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA [2]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FAMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET [3]

Introducción y Objetivos: La terapia fotodinámica se presenta como una alternativa eficaz al uso de antibióticos. En reportes previos, ha sido descripto que la muerte bacteriana por esta terapia se logra a través de un efecto fotoquímico por la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) o por un efecto fototérmico. El objetivo de este trabajo fue estudiar la producción de EROs en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MR) y en cepas anaerobias como posible mecanismo de acción de nanopartículas de oro funcionalizadas y sintetizadas con amoxicilina [1]"amoxi@AuNPs".

Materiales y Métodos: Para ello, se realizó una curva de muerte en una cepa clínica de *S. aureus* con y sin el agregado de ácido ascórbico como antioxidante. Además, se realizaron curvas de muerte de cepas anaerobias facultativas *Streptococcus mitis, Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* tratadas con las amoxi@AuNPs en anaerobiosis. Se estudió la producción de EROs en las cepas mencionadas por espectrofluorometría utilizando la sonda 2', 7´ dihidro-dicloro-fluoresceina.

Resultados: Las amoxi@AuNPs presentaron un efecto bactericida en *S. aureus* luego de 30 minutos de irradiación en presencia del antioxidante. A su vez, estas nanopartículas produjeron un efecto similar en las cepas anaerobias a igual tiempo de irradiación y no se detectaron EROs durante el tratamiento fotodinámico en ninguna de las cepas estudiadas.

Conclusiones: En base a estos resultados, se concluye que la producción de EROs no constituye el principal mecanismo de acción de las amoxi@AuNPs, por lo tanto, se propone que el efecto fototérmico y la polidispersidad en formas y tamaños de estas nanopartículas contribuirían al efecto antibacteriano. A fin de dilucidar el daño de estas cepas a nivel estructural, se proyecta realizar estudios de microscopía.

MI 121

0271 - DETECCIÓN DE LOS GENES ENTEROTOXIGÉNICOS SEA, SEB, SEC, SED Y SEE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* POR PCR TIEMPO REAL, EN MUESTRAS DE MANIPULADORES DE LA CIUDAD DE CÓRDOBA

MACUA, Alicia Viviana[1] | BELAUS, Andrea[2] | CHAGRA, Yamila[1] | GIAJ MERLERA, Guillermo[2] | HERRERO, Gabriela[1] | **DEL BO, Carolina** [1] | VIERA, Elida[1] | PASSALACQUA, Nancy[1]

UNIDAD DE MICROBIOLOGÍA. CEPROCOR. MINISTERIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE CÓRDOBA [1]; UNIDAD BIOLOGÍA MOLECULAR. CEPROCOR. MINISTERIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE CÓRDOBA [2]

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus aureus* es uno de los principales responsable de gastroenteritis asociadas al consumo de alimentos contaminados. Esta especie produce un cuadro agudo y autolimitado que se resuelve en general a las 48 hs pero que puede resultar grave para niños, ancianos y/o personas inmunodeprimidas. Dicho microorganismo puede llegar a los alimentos por medio de la materia prima, superficies o ambientes de trabajo contaminados, o por una incorrecta manipulación. El manipulador puede portar la bacteria en sus manos o mucosas y transferirla al alimento por contacto manual o por las secreciones respiratorias. Esta intoxicación resulta de la acción de diferentes tipos de enterotoxinastafilocócicas (SE), producidas en el alimento por ciertas cepas de *S. aureus*. Las principales serovariedades detectadas en intoxicaciones alimentarias son SEA, SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED y SEE pero se han detectado otras

serovariedades más que aún no han sido asociadas a algún tipo de enfermedad. El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de genes que codifican para las enterotoxinas más relevantes: SEA, SEB, SEC, SED y SEE en muestras de manipuladores de alimentos de la Ciudad de Córdoba, y la puesta a punto de la técnica de detección de los mismos por Real Time PCR Real Time (qPCR).

Materiales y Métodos: Se utilizaron 50 cepas de *S.aureus* coagulasa positivas obtenidas de hisopados de manos de manipuladores de alimentos. Se caracterizaron las mismas por pruebas bioquímicas y por qPCR.

Resultados: Del análisis por qPCR, 24(48 %) muestras dieron resultados negativos para los diferentes genes ensayados; 21(42 %) muestras dieron resultados positivos para alguna de las 4 toxinas buscadas, de los cuales, 9 (42,9 %) aislados fueron positivos para el gen sea; 5 (23,8 %) para seb; 4 (19,1 %) para sec y 3 (14,3 %) para sed, no se encontraron cepas positivas para see. Por otro lado 10 cepas arrojaron resultados inespecíficos para diferentes enterotoxinas. Como se puede observar el gen sea resulta el mas prevalente en las muestras ensayadas, en concordancia con los resultados obtenidos a nivel nacional para muestras asociadas a brotes de intoxicación alimentaria; mientras que las proporciones encontradas de sec y sed resultaron mayores que los datos de referencia. En un futuro se profundizarán estos estudios con el ensayo de nuevas cepas de manipuladores. Los resultados inespecíficos obtenidos requerirán de nuevos estudios, como por ejemplo la utilización de otros pares de primers, más específicos y/o la investigación de otras enterotoxinas.

Conclusiones: Como conclusión se puede observar que casi un 50 % de las cepas ensayadas resultan potencialmente capaces de provocar una intoxicación alimentaria, por lo cual es sumamente necesario realizar una intensiva capacitación a los manipuladores de alimentos en el ejercicio de las buenas prácticas de elaboración.

CAM - Microbiología veterinaria

MI 122
0026 - ABORTO OVINO ASOCIADO A *LISTERIA IVANOVII*

DELLA ROSA, Paola [1] | COLQUE CARO, Luis Adrian[1] | CANTÓN, Germán José[1] | MORRELL, Eleonora Lidia[1] | HECKER, Yanina Paola[2] | PAOLICCHI, Fernando Alberto[1] | FIORENTINO, María Andrea[1]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [1]; CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [2]

Introducción: *Listeria ivanovii*, es la segunda especie patógena de importancia del género *Listeria*. Si bien *L. ivanovii* infecta predominantemente a las ovejas, se ha descripto como causa de aborto esporádico en bovinos y humanos.

Caso Clínico: Este trabajo describe un caso de aborto ovino por *L. ivanovii* asociado a lesiones encefálicas en un feto de la raza Santa Inés. El problema se presentó en un rebaño de 390 ovinos, ubicado en la localidad de Avellaneda, provincia de Santa Fe, Argentina. Las ovejas se encontraban bajo condiciones extensivas y eran suplementadas con silo de maíz. En julio de 2018, y durante un período de un mes, 10 ovejas abortaron fetos a término cubiertos por sus membranas fetales. Las ovejas no manifestaron signos clínicos previos al aborto. Tanto el feto como la placenta y muestras del silo de maíz fueron enviadas al Servicio de Diagnóstico Veterinario de INTA Balcarce. Se realizó la necropsia de un feto macho de aproximadamente 130 días de gestación. Se recogieron muestras de placenta, fluidos y tejidos fetales para estudios histológicos, parasitológicos y bacterianos. Se realizó la prueba de Inmunohistoquímica utilizando el kit EnVision (DAKO) y el anticuerpo primario Listeria O Antisera Poly Types 1 y 4 (BD Difco) diluido 1/1500. Los fluidos y tejidos fetales se procesaron para la detección de *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* mediante Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y PCR. Muestras de placenta, líquido abomasal, hígado, pulmón y cerebro se cultivaron en agar McConkey (MC), agar Columbia adicionado con 7% de sangre bovina (ACB) y agar Skirrow (SK) con antibióticos. Las placas con MC, ACB y SK fueron incubadas a 37º C en aerobiosis, 10% CO2 y microaerofilia (5% O2, 10% CO2 y 85% N2), respectivamente. Las muestras de silo se cultivaron en caldo de enriquecimiento UVM Listeria modificado, realizando un repique a las 24 h a caldo base Frazer a partir del cual se realizaron a las 24-48 h repiques a placas con agar Oxford y ACB en busca de colonias sospechosas de *Listeria* spp. El examen histopatológico reveló: hepatitis multifocal necrotizante bronconeumonía supurativa y meningitis difusa moderada, observándose en todos los casos la presencia intra-lesional de colonias bacterianas. Además, se observó una gliosis multifocal leve en base del cerebro y médula espinal. La inmunohistoquímica fue positiva para *Listeria* spp. registrándose mayor inmunomarcación en hígado, pulmón y meninges. La IFI y PCR para *N. caninum* y *T. gondii* resultó negativa. *L. ivanovii* fue aislada en cultivo puro en todos los tejidos fetales, siendo las muestras de silo negativas. Lesiones encefálicas causadas por *L. ivanovii* en fetos ovinos no están descriptas en la bibliografía, pero podrían estar asociadas a una incompleta selectividad de la barrera hematoencefálica para este agente bacteriano durante el desarrollo fetal. En el presente trabajo se logró asociar la presencia de *L. ivanovii* a un brote de abortos en ovinos.

Conclusiones: Tanto *L. ivanovii* como *L. monocytogenes* se encuentran dispersas en el ambiente, siendo la fuente más común de infección la administración de silos mal conservados. Si bien en este trabajo *L.*

ivanovvi no pudo ser aislada a partir de las muestras de silo, los abortos cesaron cuando se logró el diagnóstico etiológico y se sugirió suspender la administración de este alimento en ovejas preñadas y desinfectar todos los comederos. Muchas causas de aborto en ovinos son de carácter zoonótico, por este motivo el manejo preventivo y control de los abortos debe ser específico para cada patógenos, mediante un diagnóstico etiológico rápido y preciso que permita identificar al agente causal.

MI 123

0038 - EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE DOS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* CON DIFERENTES GENOTIPOS Y ADAPTACIÓN A LA GLÁNDULA MAMARIA BOVINA CON MACRÓFAGOS DE SECRECIÓN MAMARIA

SACCO, Sofia[1] | **RENNA, María** [1] | ENGLER, Carolina[1] | ANDREOTTI, Carolina[1] | BARAVALLE, Celina[1] | BECCARIA, Camila[1] | VELAZQUEZ, Natalia[1] | CALVINHO, Luis[2] | DALLARD, Bibiana[1]

ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET) [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [2]

Introducción y Objetivos: Si bien las infecciones intramamarias (IIM) bovinas causadas por *Staphylococcus aureus* tienden a ser subclínicas y crónicas, se ha evidenciado la presencia de cepas con mayor adaptación a la glándula mamaria (GM) asociadas con IIM persistentes (P) y cepas con menor adaptación asociadas con IIM transitorias (T). Durante las IIM los macrófagos son indispensables para el reconocimiento y eliminación de las bacterias causantes de mastitis. El objetivo fue evaluar y comparar la capacidad fagocítica y bactericida de macrófagos bovinos luego de la interacción con dos cepas de *S. aureus*, una asociada a IIM T y otra a IIM P, con diferentes genotipos.

Materiales y Métodos: Macrófagos provenientes de secreciones de GM en involución (15 días) fueron desafiados con las cepas T y P de *S. aureus* marcadas con FITC. Se analizó por citometría de flujo el porcentaje (%) de macrófagos con bacterias asociadas (adheridas y/o internalizadas) y el número de bacterias fagocitadas por célula (intensidad de fluorescencia media-IFM).

Resultados: Se observaron diferencias en el % de macrófagos con bacterias asociadas (FITC+) y en la IFM, siendo ambos parámetros mayores cuando los macrófagos fueron enfrentados con la cepa P de *S. aureus* en comparación con la cepa T (p=0,041; p=0,026 respectivamente). Cuando se evaluó la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), se observó un aumento en el % de ROS en los macrófagos FITC+ infectados con la cepa P en comparación con la cepa T (p=0,029). Sin embargo, la IFM fue similar para ambas cepas evaluadas. En los sobrenadantes de estos cultivos se evaluó la producción de nitritos y no se encontraron diferencias entre los macrófagos enfrentados con ambas cepas y los basales. Se evaluó además la sobrevida de las cepas T y P de *S. aureus* en el interior de los macrófagos y no se pudieron recuperar bacterias viables de los lisados celulares a las 2, 4, 8 y 24 hs post infección (pi). Por último, se evaluó por microscopía de fluorescencia la viabilidad de las cepas T y P de *S. aureus* en el interior de los macrófagos. A las 2 hs pi, se observó una mayor densidad de bacterias vivas fagocitadas en los macrófagos enfrentados con la cepa P en comparación con la cepa T. A las 4 hs pi solamente se observaron bacterias vivas en el citoplasma de macrófagos enfrentados con la cepa P de *S. aureus*. En ambos tiempos pi se identificaron bacterias muertas en el citoplasma de los macrófagos enfrentados con ambas cepas en estudio.

Conclusiones: Estos resultados indicarían que si bien la cepa P fue fagocitada en mayores % por los macrófagos e indujo una mayor producción de ROS, fue más resistente a los mecanismos microbicidas desencadenados por los macrófagos en comparación con la cepa T. La ausencia de bacterias vivas intracitoplasmáticas después de las 4 hs pi y la falta de aislamiento de ambas cepas de *S. aureus* partir de los lisados celulares infectados, demuestra que los macrófagos de secreción mamaria de secado fueron eficientes para fagocitar y desplegar mecanismos bactericidas para *S. aureus*.

MI 124

0055 - CABALLOS DE TIRO, UNA HERRAMIENTA DE TRABAJO Y UN POTENCIAL PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

MARIÑO, Betina [1] | CURIOTTI, Jimena[1] | SCHMELING, Fernanda[2] | JACOB, Paulina[2] | MAZZINI, Rubén[1] | VANASCO, Bibiana[2] | LANDOLT, Noelia[2] | PUJATO, Nazarena[2] | CHIANI, Yosena[2]

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [1]; LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA DE LEPTOSPIROSIS. INER. DR. E. CONI. ANLIS [2]

Introducción y Objetivos: En la República Argentina, muchas familias viven en situación de pobreza y recurren al equino como herramienta de trabajo para realizar la recolección informal de residuos mediante tracción a sangre. El estado de salud de los animales, generalmente es inadecuado, observándose deficiencias desde el punto de vista nutricional, sanitario y de manejo. El objetivo del presente trabajo fue realizar un relevamiento serológico para determinar la prevalencia serológica frente a leptospirosis en una población de

equinos de edades que oscilaron entre 6 meses y 15 años aproximadamente, ambos sexos, sin manifestaciones clínicas; provenientes de un barrio del cordón oeste de la ciudad de Santa Fe (Argentina). Las muestras se tomaron en el período comprendido entre 2015 y 2018.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron 63 muestras de sangre entera, mediante venopunción yugular izquierda. Se procesaron mediante la prueba de microaglutinación (MAT) técnica confirmatoria para leptospirosis, utilizando como antígenos, cepas de los siguientes Serogrupos/serovares: Ballum/Castellonis, Canicola/Canicola, Icterohaemorrhagiae/Icterohaemorrhagiae, Pomona/Pomona, Tarassovi/Tarassovi, Sejroe/Wolffii, Sejroe/Hardjo, Bataviae/Bataviae, Australis/Australis, Autumnalis/Autumnalis, Cynopteri /Cynopteri, Hebdomadis /Hebdomadis, Javanica /Javanica y Panama /Panama. El título de corte utilizado fue 1/100.

Resultados: Los resultados obtenidos arrojaron que, de las 63 muestras, 42 fueron positivas a la MAT (66,7%), indicando la presencia de anticuerpos anti leptospiras en los sueros de los equinos estudiados. Los serovares prevalentes fueron Autumnalis (39,7%), Icterohaemorrhagiae (20,6%), Hardjo (16,0%), Wolffi y Canicola (12,7%), Pomona (11,1%) y Castellonis (8%). El título más alto fue de 1/800 para Autumnalis y para Icterohaemorrhagiae. El serovar Autumnalis prevaleció como único reaccionante en 14 muestras.

Conclusiones: Se observó que la proporción de seropositivos fue alta, cercana al 70%. Con respecto a los serovares más reaccionantes, Autumnalis tuvo una gran reactividad, en muchos casos actuando como el único serogrupo reaccionante. Los roedores son considerados reservorio tanto para los serovares Autumnalis como también Icterohaemorrhagiae, que son los de mayor prevalencia en éste estudio. Esta población de equinos habita en zonas inundables, ambiente con acumulación de basura, lo que atrae una elevada población de roedores y cuyos propietarios conviven con una alta población de caninos, proporcionando un escenario propicio para la presentación de leptospirosis. Los equinos utilizados en la actividad del cirujeo, no presentan ningún tipo de control y se encuentran en condiciones higiénicas sanitarias inadecuadas. Es importante implementar medidas de control y prevención, ante este potencial problema en la salud pública.

MI 125

0062 - "ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *IN VITRO* DE BACTERIAS PROBIÓTICAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PRESENTES EN LA VAGINA DE VACAS LECHERAS"

ELERA OJEDA, Rosario Nelly [1] | GUERRA DELGADO, Marco Sergio[2]

CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE ZOOTECNIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA [1]; CÁTEDRA DE INMUNOLOGÍA. FACULTAD DE ZOOTECNIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA [2]

Introducción y Objetivos: El uso incorrecto de antibióticos suprime la microbiota normal residente, aumenta el pH, y favorecen el desarrollo y la proliferación de bacterias patógenas que originan trastornos graves e inclusive al perderse la integridad de la mucosa y la misma flora residente puede convertirse en patógena. Algunas especies bacterianas se pueden utilizar en medicina veterinaria como probióticos siempre que sean activos, seguros y eficaces. Con este estudio se pretendió reemplazar a los antibióticos o producto químico antibacteriano por las bacterias probióticas, evaluando su acción inhibitoria para ser usado en un futuro, como un material biológico que ayude a prevenir, controlar y curar enfermedades reproductivas en animales domésticos, por ello el trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antagónica in vitro de las bacterias probióticas sobre el crecimiento de bacterias presentes en la vagina de vacas lecheras, mediante la prueba de sensibilidad *in vitro*.

Materiales y Métodos: La fase experimental se realizó en el laboratorio de Nutrición fisiológica de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional de Piura, en el año 2015. Se aislaron 18 cepas bacterianas aeróbicas y anaeróbicas diferentes de la vagina de vacas. Una vez identificados los géneros bacterianos se procedió a realizar el test de antagonismo, sembrando el inóculo incubado en caldo triptosa con un hisopo de madera, sobre la superficie del agar Müeller Hinton a cada uno de los microorganismos aislados de la microbiota vaginal (uno por placa) y sobre este sembrado se inocularon las cepas de bacterias probióticas, en puntos equidistantes. Las placas se incubaron en posición invertida a 35°C por 48 horas. Las cepas bacterianas consideradas como antagonistas en la prueba de antagonismo in vitro mediante enfrentamiento dual I, fueron aquellas que presentaron un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de las bacterias vaginales (PICR) mayor o igual a 30%. Para procesar los datos se utilizaron promedios, porcentajes y un nivel de significancia estadística de 95%.

Resultados: Se comprobó durante este estudio que las bacterias probióticas presentan acción antagónica y poseen propiedades antibacteriales que las hacen efectivas para detener el crecimiento de: *Escherichia coli, Staphylococcus epidermidis, Micrococcus sp., Bacillus sp., Acinetobacter sp., Neisseria sp., Klebsiella sp., Providencia sp., Serratia sp., Enterobacter sp., Pleisiomonas sp y Hafnia sp*. Los resultados indican que la producción de substancias inhibitorias es un fenómeno común de las bacterias probióticas, causando ventajas competitivas sobre otras bacterias y jugando importante rol en el control de bacterias residentes en la vagina bovina. Las bacterias probióticas, mostraron capacidad antagónica a 12 (66,7%) géneros bacterianos aislados de la vagina de vacas, mostrando un PICR mayor al 30%, mientras que 6 (33,3%) presentaron un PICR menor

al 30%, podemos asumir que las bacterias probióticas tienen un alto porcentaje de inhibición frente a las bacterias aisladas de la vagina de vacas. Los géneros con mayores PICR fueron: Bacillus, con el 80%, seguido de Escherichia y Enterobacter. (60% cada uno) y Providencia (48%).

Conclusiones: Se concluye que las bacterias probióticas presentan una alta actividad antagónica *in vitro* sobre las bacterias aisladas de la vagina de vacas lecheras.

MI 126

0099 - BACTERIAS ACIDO LACTICAS CON POTENCIAL PROBIÓTICO OBTENIDOS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL PORCINA FRENTE A MICROORGANISMOS CAUSANTES DE DIARREAS.

AGUIRRE, Gabriela Edith

CARRERA DE VETERINARIA. INSTITUTO DE CS BÁSICAS Y APLICADAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE VILLA MARÍA

Introducción y Objetivos: En los sistemas de producción porcina es frecuente la utilización de dosis profilácticas de antimicrobianos como promotores del crecimiento y para evitar el desarrollo de microorganismos patógenos. Durante el destete temprano, la proliferación de microorganismos causantes de diarrea se ve favorecida por la carencia de una población microbiana intestinal estable y la presencia de un sistema inmune inmaduro. Los efectos beneficiosos de los probióticos podrían aplicarse como alternativa a la utilización de antimicrobianos. Considerando que el uso abusivo e irracional de dichos fármacos ha incrementado notablemente la población de bacterias resistentes, conlleva implicaciones negativas tanto en la salud animal y humana, como en el ambiente. En el presente trabajo se plantea identificar y seleccionar in vitro bacterias ácido lácticas (BAL) con perfil probiótico, provenientes de tractos gastrointestinales porcinos y valorar su accionar antimicrobiano sobre bacterias causantes de diarreas en dicha especie animal.

Materiales y Métodos: De 5 establecimientos pecuarios del Departamento Río Segundo, Córdoba, se aislaron 58 cepas de BAL obtenidas a partir de intestinos de cerdos muertos por cuadros diarreicos o aplastamiento, entre el nacimiento y 15 días posteriores al destete. Fragmentos de duodeno, yeyuno y colon de cada animal, se incubaron en caldo MRS, 24 h a 37 °C, en aerobiosis. Posteriormente se realizaron repiques desde estos caldos en agar MRS, incubándose 48 h a 37 °C, en anaerobiosis. Fueron seleccionados aquellos cultivos con colonias de morfologías típicas de BAL (borde neto, cremosas y blancas), pH entre 4 y 5, catalasas negativas y Gram positivos. Mediante la técnica microbiológica de difusión en agar, se determinó el antagonismo de las BAL ante microorganismos patógenos (Salmonella spp. y Salmonella LMO1; Escherichia coli 81382, 81749 y ATCC 35218).

Resultados: Se evidenció el antagonismo de las BAL contra Salmonella spp. y Salmonella LMO1 en el 65,0% de los enfrentamientos; E. coli 81382 y E. coli 81749 lo hicieron en un 66,7% y E. coli ATCC 35218 en un 71,7% de los enfrentamientos. Cabe destacar que 25 BAL causaron inhibición del crecimiento de las 5 cepas de patógenos y solo 8 no inhibieron en ninguno de los casos.

Conclusiones: En una próxima etapa, las cepas de BAL que resultaron eficaces, se las caracterizará según su capacidad fermentativa, crecimiento en condiciones hostiles y su resistencia a sales biliares y jugo gástrico. Se espera que los resultados que arrojen estas pruebas in vitro permitan evaluar el probable comportamiento in vivo de las BAL como alternativa a la utilización de antimicrobianos, lo cual supone un avance en el control de la resistencia bacteriana. En posteriores trabajos estos probióticos podrán ser puestos a prueba como suplementos para aumentar la diversidad bacteriana del intestino, desplazando así a los organismos patógenos, y promoviendo un ecosistema bacteriano intestinal estable.

MI 127

0102 - INFECCIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES MAMARIAS HUMANAS CON EL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA (BLV)

MARTINEZ CUESTA, Lucia [1] | NIETO FARIAS, Maria Victoria[2] | LENDEZ, Pamela[3] | SHEAHAN, Maureen[4] | ROWLAND, Raymond[5] | DOLCINI, Guillermina L[2]| CERIANI, Maria Carolina[2]

FCV-UNCPBA, CIVETAN-CONICET, CICPBA / COLLEGE VET MEDICINE, U OF KANSAS, USA. [1]; FCV-UNCPBA, CIVETAN-CONICET, CICPBA [2]; FCV-UNCPBA [3]; COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, KANSAS STATE UNIVERSITY, MANHATTAN, KANSAS [4]; COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, KANSAS STATE UNIVERSITY, MANHATTAN, KANSAS. [5]

Introducción y Objetivos: Introducción y objetivos: El virus de la leucosis bovina es un retrovirus responsable de la leucosis enzoótica bovina. En los últimos años se ha asociado la presencia de distintos virus al desarrollo de cáncer de mama en humanos. Particularmente, se ha detectado la presencia de fragmentos de

genes y proteínas del BLV en tejido y sangre proveniente de pacientes con cáncer de mama. Hasta el momento, no se evaluado si el virus es capaz o no de infectar este tipo de células en humanos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es infectar una línea celular epitelial mamaria humana (MCF10A) con BLV y evaluar el efecto del virus sobre este tipo celular.

Materiales y Métodos: Materiales y métodos: Se extrajeron 20 ml de sangre entera con heparina de un bovino infectado con BLV, con linfosarcoma, en la región de Manhattan, Kansas, USA. Se aislaron los linfocitos de sangre periférica (PBMC) mediante el método de Ficoll-Hypaque. Los mismos fueron co-cultivados durante 24 hs con las células MCF10A. Posteriormente, se realizaron lavados con PBS y con tripsina de las células MCF10A infectadas. Esta nueva línea celular se identificó con el nombre de MCF10A BLV. Para evaluar la infección en esta línea celular, se realizó PCR convencional para la detección del gen viral pol y del gen endógeno GAPDH humano y bovino, inmunofluorescencia indirecta para la detección de la proteína de la cápside viral p24, y western blot para la detección de la proteína p24 en sobrenadante de cultivo y en el pellet de células.

Resultados: Resultados: A partir de los 3 pasajes posteriores a la infección fue posible detectar la presencia del fragmento del gen viral pol en el ADN genómico de las células MCF10A BLV. Al mismo tiempo, en estas células solo fue posible amplificar un fragmento del gen GAPDH humano, mientras que no se observó amplificación del gen GAPDH bovino. La inmunofluorescencia mostró una escasa cantidad de células positivas para la proteína viral p24. Sin embargo, no fue posible detectar la presencia de esta proteína en el sobrenadante de cultivo mediante western blot. Tampoco fue posible detectar la presencia de la proteína p24 en el lisado celular, lo cual sugiere que, si bien el virus se encuentra integrado en el genoma de las células MCF10A, no se estaría expresando.

Conclusiones: Conclusión: Hemos infectado una línea celular mamaria humana con BLV. La presencia de la proteína p24 en el citoplasma de las células y la detección de un fragmento del gen viral pol en el genoma de las células MCF10A BLV confirma que el virus es capaz de ingresar en este tipo celular. Sin embargo, la ausencia de proteínas virales en el sobrenadante de cultivo y en los lisados celulares sugiere que, si bien el virus ingresa a las células y se integra al genoma, no se estaría expresando activamente. Se sabe que las infecciones no productivas de ciertos virus se asocian con el desarrollo de tumores. Sería importante continuar con los estudios en este tema para poder comprender si efectivamente el BLV tiene algún rol en el desarrollo de cáncer de mama en humanos.

MI 128

0116 - EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PARA PRODUCIR BIOFILM DE DIFERENTES CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADAS DE MASTITIS BOVINA EN TAMBOS DE CÓRDOBA Y SANTA FE

PEREYRA, Elizabet Amanda Lorena [1] | BECCARIA, Camila[2] | VELÁZQUEZ, Natalia Soledad[2] | CALVET, Estela Maris[3] | CABELLO, Daiana[2] | PIROLA, Silvana Inés[2] | RENNA, María[1] | SILVESTRINI, Paula[2] | BARAVALLE, Celina[1] | CALVINHO, Luis Fernando[4] | DALLARD, Bibiana Elisabet[1]

ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET) / FCV-UNL [1]; ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET) [2]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [3]; FCV-UNL / INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) E.E.A RAFAELA [4]

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus aureus* es el patógeno mayor más frecuentemente aislado de casos de mastitis bovina, tanto en Argentina, como en otros países de gran desarrollo lechero. Entre la gran variedad de factores de virulencia (FV), este patógeno tiene la capacidad de producir biofilm, lo que facilita la adherencia y colonización del epitelio de la glándula mamaria (GM) y evasión de las defensas inmunológicas del animal, causando infecciones intramamarias (IIM) persistentes. Se ha demostrado que el operón ica y una proteína de la superficie bacteriana denominada Bap (proteína asociada al biofilm), cumplen con funciones específicas en la formación del biofilm. El objetivo de este estudio fue establecer diferencias en la capacidad para producir biofilm y en la prevalencia de genes involucrados en su formación, entre cepas de *S. aureus* provenientes de IIM bovinas, de diferentes regiones de Córdoba y Santa Fe.

Materiales y Métodos: Se aislaron 72 cepas de *S. aureus* a partir de IIM subclínicas, 36 provenientes de la provincia de Córdoba (Río Cuarto y Río Segundo) y 36 de Santa Fe (Esperanza y Rafaela). La evaluación de la producción de biofilm de todas las cepas se realizó mediante el método de cultivo en microplacas de poliestireno, incluyendo como control positivo la cepa *S. aureus* V329 (fuerte productora de biofim). El experimento se repitió tres veces y los resultados se expresaron como densidades ópticas (DO). Además se realizó la extracción de ADN genómico y posterior PCR de punto final para la evaluación de la prevalencia de genes que codifican para la formación de biofilm (icaA, icaD, icaC y bap).

Resultados: De las 36 cepas evaluadas provenientes de Córdoba, el 80,55% presentó fuerte capacidad para producir biofilm, mientras que el 19,44% lo hizo en forma moderada. De las cepas procedentes de Santa Fe, el 58,33%, 33,33% y 2,77%, fueron fuertes, moderadas y débiles productoras de biofilm, respectivamente. En esta provincia, sólo dos cepas fueron no productoras de biofilm (5,55%.). En ambas regiones evaluadas, el

locus ica mostró prevalencia elevada y uniforme; observándose para icaADC 100%, mientras que el 100% resultó bap negativa.

Conclusiones: Estos resultados demostraron que en ambas regiones evaluadas, una elevada proporción de las cepas (cercana al 100%), presentaron diferentes capacidades para producir biofilm. Además se demostró que el gen bap no es indispensable para su producción, no así los genes del operón ica. Estos datos aportan información regional para el futuro diseño de inmunógenos dirigidos a prevenir las IIM por *S. aureus*.

MI 129

0167 - SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS DE *STAPHYLOCOCCUS SP.* AISLADOS DE CANINOS

PAREDES, María Silvina | AMABLE, Valeria Ines | BOEHRINGER, Silvia Irene

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNNE.

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus pseudintermedius* ha sido el principal estafilococo coagulasa positivo (ECP) patógeno aislado de caninos. El aislamiento de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) en pequeños animales, sumado al reciente surgimiento de cepas de *Sta. pseudintermedius* resistentes a meticilina (SPRM), y el incremento de cepas de ECP resistentes al menos a 3 familias de antibióticos: multirresistencia (MDR), ha demandado una adecuada identificación de estas especies, y una exhaustiva evaluación del perfil de sensibilidad a antibióticos. El objetivo del trabajo fue evaluar los perfiles de sensibilidad a antibióticos de ECP aislados de muestras clínicas de piel y conducto auditivo externo en caninos.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 33 muestras remitidas al Servicio de Diagnóstico Bacteriológico y Micológico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE durante el período comprendido entre septiembre de 2017 y abril de 2019. Los microorganismos aislados se tipificaron siguiendo técnicas de rutina en el laboratorio. Se determinó el perfil de sensibilidad a distintos antibióticos utilizando la técnica de difusión por el método de Kirby-Baüer según normas del CLSI, M100 2019 y puntos de corte establecidos en ese documento y en CLSI VET01-02 2013 para bacterias aisladas de animales. Se probaron discos de amoxicilina más ácido clavulánico (AMC), enrofloxacina, eritromicina, gentamicina, trimetroprima sulfametoxazol (TMS), clindamicina y cefoxitina (para *Sta. aureus*) u oxacilina (*Sta. pseudintermedius*) como marcadores de meticilino resistencia.

Resultados: De las 33 cepas analizadas, 21,21 % fueron tipificadas como *Sta. aureus*, mientras que 78,79% como *Sta. pseudintermedius*. El perfil de resistencia en los primeros fue AMC 14,3%, enrofloxacina 14,3%, gentamicina 14,3%, TMS 42,86%, eritromicina 28,57% y clindamicina 57,14%. En cuanto al mecanismo de resistencia a macrólidos fue constitutiva en un 100%. El fenotipo de resistencia a clindamicina y sensibilidad a eritromicina se detectó en 42,86% de las cepas analizadas. El 14,3 % fue SARM. Se evidenció MDR en 42,86% de las cepas, en tanto que 85,72% presentaron resistencia simple a al menos un antibiótico. En el caso de *Sta. pseudintermedius* el perfil de resistencia encontrado fue: AMC 19,23%, enrofloxacina 19,23%, gentamicina 23,08%, TMS 50%, eritromicina 50% y para clindamicina 50%. La resistencia a macrólidos fue constitutiva en 76,92% e inducible en 23,08% de los casos. 19,23% se clasificó como SPRM. Se evidenció MDR en 42,86% de las cepas, en tanto que un 85,72% presentaron resistencia al menos a un antibiótico.

Conclusiones: La resistencia a diferentes antibióticos utilizados de rutina en medicina veterinaria, sumado al potencial zoonótico de los ECP meticilino resistentes constituyen un reto en la terapéutica veterinaria y un

MI 130

0172 - AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE LACTOBACILOS DE ORIGEN AVIAR

MORETTI, Ana Florencia [1] | LEON PELÁEZ, Ángela[2] | DE ANTONI, Graciela[3] | GOLOWCZYC, Marina[1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN CRIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (CONICET-LA PLATA) [1]; CAT. DE MICROBIOLOGÍA GENERAL - DPTO. DE CIENCIAS BIOLOGICAS - FAC. DE CIENCIAS EXACTAS - UNLP [2]; COMISIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (CIC) [3]

Introducción y Objetivos: El uso de antibióticos en dosis sub-terapéuticas como aditivos promotores del crecimiento (APC) genera numerosos problemas, los cuales predisponen a los animales a contraer enfermedades. Es por ello que se evalúan los probióticos como una alternativa segura e inocua a los APC, los cuales son microorganismos vivos que confieren una influencia positiva en el balance de la microbiota intestinal relacionada directamente con la participación activa en los procesos fermentativos y la actividad inhibitoria frente a patógenos, entre otros efectos. El objetivo de éste trabajo fue aislar microorganismos a partir del tracto gastrointestinal de pollos broilers, estudiar las características probióticas e identificar los aislamientos mediante PCR.

Materiales y Métodos: Se sacrificaron pollos de 22 y 10 días de vida y se tomaron muestras de buche, yeyuno-íleon y ciegos por raspado. Se realizó el aislamiento por agotamiento en estrías en agar MRS y se seleccionaron las colonias diferentes (macro y microscópicamente). De cada una se evaluó la resistencia a sobrevivir a las condiciones de acidez, temperatura y enzimas que existen en el tracto gastrointestinal aviar según: crecimiento en medio de cultivo acidificado (pH 5) y en presencia de bilis, y resistencia a las condiciones del tracto gastrointestinal *in vitro*. Se seleccionaron las cepas con los mayores porcentajes de supervivencia obtenidos y se realizó la caracterización fenotípica mediante el kit API 50 CHL (bioMérieux, France) para evaluar su perfil de fermentación de azúcares. Por último, se determinó su identidad utilizando el método de amplificación por PCR, con primers universales para el gen 16S del RNAr (338 forward y 518 reverse), análisis de las secuencias con un programa informático (BioEdit Sequence Alignment Editor) y luego introduciendo la información en el BLAST (NCBI) a fin de determinar el % de homología con cepas tipo depositadas.

Resultados: Se obtuvo un total de aproximadamente 40 aislados bacterianos del género *Lactobacillus*. En cuanto a la resistencia a las condiciones del tracto gastrointestinal *in vitro*, se obtuvieron valores de supervivencia en el rango de 100%-1%, por lo que se seleccionaron los 5 aislados con los mayores porcentajes y que además mostraron resistencia al crecimiento en placa en medio ácido y en presencia de bilis. En cuanto a la caracterización fenotípica, se obtuvieron porcentajes de identidad muy altos compartidos entre diferentes especies de *Lactobacillus* (*L. salivarius* y *L. agilis*) y con variaciones en sólo 9 de los 50 azúcares evaluados, lo cual es esperable ya que todas pertenecen al mismo género microbiano. De acuerdo a la identificación molecular, se estableció que cuatro de las cepas eran *L. salivarius*, y una *L. agilis*.

Conclusiones: Del total de cepas aisladas, se seleccionaron e identificaron cinco con capacidad de resistir las condiciones del tracto gastrointestinal *in vitro* y con potencialidad probiótica.

MI 131

0180 - ENSAYOS PRELIMINARES SOBRE LA ACTIVIDAD PROBIÓTICA *IN VITRO* DE SOBRENADANTE DE KÉFIR EN LA ALIMENTACIÓN DE LARVAS DE *APIS MELLIFERA*

RODRÍGUEZ, María Agustina [1] | FERNÁNDEZ, Leticia Andrea[2] | GALLEZ, Lliliana María[1]

LABORATORIO DE ESTUDIOS APÍCOLAS, DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR [1]; LABORATORIO DE ESTUDIOS APÍCOLAS. DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR/ CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Muchos productores dejan escasas reservas de miel después de la cosecha debiendo aplicar sustitutos alimentarios. La incorporación de microorganismos con potencial probiótico para la elaboración de suplementos nutricionales apícolas les otorgaría un valor agregado. El objetivo de este trabajo fue estudiar el potencial probiótico de sobrenadante de kéfir en la alimentación de larvas de abejas *Apis mellifera*.

Materiales y Métodos: 1) Se realizaron tres ensayos *in vitro* con larvas en microplacas de 8x12 (3 repeticiones con 24 larvas cada una) en condiciones controladas de temperatura y humedad. Los tratamientos consistieron en alimentar larvas con una solución azucarada diluida en agua con jalea real (Control) y con una solución azucarada diluida en sobrenadante de kéfir (1:1) con jalea real (Kéfir). Se evaluó el éxito en el traslarve a las 48 horas y las variables cuantitativas de peso, tamaño y mortalidad al séptimo día. Se prosiguió el ensayo a fin de comprobar si las larvas eran capaces de pasar al estadio de pupa y adulto. 2) Se estudió el efecto de *Paenibacillus larvae* utilizando $6{,}0x10^3$ esporas en 10 microlitros de alimento, sólo el primer día, sobre 20 larvas en una microplaca con respecto a la misma cantidad en un tratamiento control. En otros ensayos se compararon microplacas en diferentes posiciones (inclinada y sin inclinar) y de diferentes bases (cóncava y plana) para lo cual se traslarvaron 36 larvas a cada una.

Resultados: 1) No se hallaron diferencias significativas en el éxito en el traslarve ($p>0{,}1$) a las 48 h ni en el porcentaje de mortalidad ($p>0{,}05$) entre los tratamientos Control y Kéfir en los tres ensayos. Las variables peso y tamaño de las larvas evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos analizados ($p<0{,}01$) sólo en un ensayo. En los otros dos, ninguna de las variables presentó diferencias significativas (peso: $p>0{,}1$, longitud: $p>0{,}05$) entre tratamientos. El estadio de pupa y de adulto fue alcanzado tanto por las larvas alimentadas con solución Control (11 pupas y 5 adultas) como con Kéfir (5 pupas y 4 adultas). 2) La mortalidad de las larvas sometidas a esporas fue del 100% y en el tratamiento control del 45% luego de 48 h del traslarve. En el ensayo de distintos tipos de microplacas, el éxito en el traslarve fue del 41,6% en la microplaca inclinada y del 69,4% en la sin inclinar. El porcentaje de mortalidad fue 75% y 50%, respectivamente. Estos ensayos también demostraron que el desarrollo larval es mejor en microplacas de base plana con respecto a las de base cóncava.

Conclusiones: Estos ensayos preliminares permitieron definir protocolos de trabajo con larvas *in vitro* para continuar con esta línea de investigación. Asimismo, demostraron que el grado de aceptación del sobrenadante de kéfir no difiere de la solución control.

MI 132

0187 - PROBIOTIOCOS EN AVES: EFECTO DE 3 CEPAS DE *LACTOBACILLUS SPP* EN POLLITOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *SALMONELLA* ENTERITIDIS

SOSA, Nelida | BATALLE, Mariano | **BARRIOS, Hebe** | PROSDÓCIMO, Florencia Maria

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

Introducción y Objetivos: Las formulaciones probióticas contienen microorganismos vivos que al ser suministrados en dosis adecuadas modifican la composición de la flora del tracto gastrointestinal produciendo efectos favorables para la salud. Los lactobacilos son los microorganismos más usados como probióticos en humanos y animales y se recomiendan para prevenir enfermedades entéricas en reemplazo de los antibióticos promotores de crecimiento, cuyo uso ha sido prohibido, por la Unión Europea en la producción intensiva de aves. En investigaciones previas de la Universidad Nacional de Luján se aislaron y seleccionaron bacterias de ácido láctico con propiedades benéficas para su utilización como probióticos. Las cepas fueron aisladas a partir de heces de aves adultas sanas *Gallus Domesticus*, caracterizadas mediante pruebas fisiológicas y bioquímicas, identificadas por patrones de fermentación de azucares (API 50 CHL) y seleccionadas por sus propiedades probióticas: viabilidad; tolerancia a ácidos en buffer fosfato salino (pH 6,5- 3,5 – 1,5); resistencia a 0,5% bilis, capacidad inhibitoria de Salmonella spp. y la capacidad de adherencia al epitelio del intestino y buche del ave. En este estudio se evaluó el efecto probiótico de 3 *Lactobacillus spp* (cepas Unlu 43, 100 y 117) en las dos primeras semanas de vida en pollos parrilleros infectados experimentalmente con *Salmonella* Enteritidis (SE)

Materiales y Métodos: Cincuenta pollitos Cobb de 1 día de vida, libres de *Salmonella spp*, fueron alojados en jaulas experimentales del bioterio avícola. A partir del primer día de vida, se administraron las cepas probióticas en el agua de bebida en dosis 10^2 ufc/ave/día. La inoculación con SE, aislada de envases de cartón (maples) provenientes de granjas de aves de postura, se efectuó a los 7 días de vida de las aves. El ensayo consistió en 5 tratamientos: control negativo (no recibieron lactobacilos ni SE), control positivo (sin lactobacilos inoculados con SE), probiótico 43 (recibieron lactobacilo UNLu 43 e inoculados con SE), probiótico 100 (recibieron lactobacilo UNLu 100 e inoculados con SE), probiótico 117 (recibieron lactobacilo UNLu 117 e inoculados con SE) a razón de 10 aves por tratamiento.En hígado, bazo, ciegos y unión cecal de cada ave se evaluó la presencia y ausencia de SE por métodos bacteriológicos convencionales y los parámetros productivos de los pollos parrilleros (Test de Tukey/p< 0,05).

Resultados: La cepa UNLu 43 evitó la colonización por SE en todas las aves tratadas en cambio las cepas UNLu 100 y 117 solo disminuyeron la infección sistémica (presencia de SE en hígado) en un 80% y 60% respectivamente. Las cepas 43 y 100 aumentaron significativamente el peso y la ganancia de peso de las aves (p< 0,05/ test de Tukey), sin modificar el consumo en la primera semana de vida del ensayo, luego a los 14 días ninguno de los lactobacilos produjo cambios significativos en los parámetros productivos evaluados, aunque las aves que recibieron las cepas 43 y 100 presentaron los mayores pesos promedio.

Conclusiones: A partir de los resultados obtenidos se concluye que la cepa UNLu 43 puede ser considerada como probiótica, con la finalidad de prevenir la infección por SE en aves durante las primeras semanas de vida.

MI 133

0287 - ESTUDIO Y DETECCIÓN DE PATOGENOS DE IMPORTANCIA EN LA INDUSTRIA PORCINA EN CERDOS (SUS SCROFA) SILVESTRES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

SERENA, María [1] | CARPINETTI, Bruno[2] | METZ, Germán[1] | GILEAD, Tomás[3] | ASPITIA, Carolina[4] | ORIGLIA, Javier[5] | LOZADA, Inés[6] | ECHEVERRÍA, María Gabriela[1]

LABORATORIO DE VIROLOGÍA, FCV-UNLP; INVESTIGADOR CONICET [1]; INSTITUTO DE CIENCIAS SOCIALES Y ADMINISTRACIÓN. UNIVERSIDAD NACIONAL ARTURO JAURETCHE [2]; LABORATORIO DE VIROLOGÍA, LABORATORIO PATOLOGÍA ESPECIAL, FCV-UNLP [3]; LABORATORIO DE VIROLOGÍA, LABORATORIO PATOLOGÍA ESPECIAL, FCV-UNLP [4]; CÁTEDRA DE PATOLOGÍA DE AVES Y PILÍFEROS FCV-UNLP [5]; LABORATORIO DE PATOLOGÍA ESPECIAL FCV-UNLP [6]

Introducción y Objetivos: Durante las últimas décadas, las poblaciones de cerdos silvestres han experimentado un importante aumento en la Argentina, frecuentemente superpuestas con la distribución de granjas comerciales, implican un riesgo para la transmisión de enfermedades, ya que el cerdo silvestre podría actuar como reservorio de patógenos. Los virus de pseudorrabia (PRV), parvovirus porcino (PPV) y circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) son frecuentemente patógenos involucrados en pérdidas económicas en los establecimientos de producción porcina. En 2016, en USA se identificó un nuevo circovirus asociado a un brote de síndrome de dermatitis y nefropatía en cerdas con problemas reproductivos al cual denominaron PCV-3. Diversas especies de clamidias (C. psittaci, C. abortus, C. suis) han sido detectadas en cerdos silvestres las cuales pueden tener implicancias económicas y zoonóticas, especialmente entre cazadores que manipulan carne y carcazas. El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de PRV, PPV, PCV-2, PCV-3 y Chlamydia spp. por técnicas serológicas y moleculares.

Materiales y Métodos: Durante 2018, se tomaron muestras de 30 jabalíes de la Bahía de Samborombón, luego de la obtención de los permisos de captura científica correspondientes. Se colectaron muestras de sangre por punción yugular y se dejaron coagular a temperatura ambiente. Posteriormente, se tomaron muestras de órganos de cada ejemplar capturado (corazón, pulmón, riñón, bazo e hígado) las cuales fueron conservadas a 4°C hasta su remisión al laboratorio de Virología de la FCV-UNLP. Las muestras se procesaron en forma estéril formando "pooles" por animal para la extracción del material genético con kits comerciales. Se utilizó la técnica de PCR convencional para la detección de los genes NS1 y VP2 de PPV, el gen gD de PRV, los genes cap de PCV-2 y PCV-3 y PCR tiempo real para el gen 23S rARN de Chlamydia spp. Los anticuerpos contra PRV se analizaron mediante la prueba de neutralización viral (NV) con la cepa TL92 aislada en nuestro laboratorio.

Resultados: Todas las muestras analizadas por PCR resultaron negativas a PRV. Se detectaron 20 animales positivos para PPV, 6 para PCV-2, 1 para PCV-3 y 1 para Chlamydia spp. Quince animales fueron positivos a PRV por NV (títulos entre 1/8 y 1/256). Co-infección entre PRV y PPV fue detectada en 7 animales, mientras que entre PRV y PCV-2 en 3; entre PPV y PCV-2 fue detectada en un solo animal y el único ejemplar positivo para PCV-3 también fue positivo para PRV y PPV.

Conclusiones: En conclusión, la presencia de anticuerpos contra PRV y la detección genómica de PPV, PCV-2, PCV-3 y Chlamydia spp. dan evidencia de una posible co-infección. Este trabajo, es el primer reporte sobre el estudio y detección molecular de dichos agentes en cerdos silvestres en la Argentina lo que demuestra que estos animales actúan como reservorio de varios patógenos, convirtiéndose en potenciales fuentes de infección para la población de cerdos domésticos y en el caso particular de Chlamydia spp. implicaría un posible riesgo zoonótico.

MI 134

0282 - BACTERIÓFAGOS: UNA ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE *SALMONELLA* ENTERITIDIS EN AVICULTURA

ORTIZ, Xoana [1] | PROSDÓCIMO, Florencia Maria[2] | BARRIOS, Hebe[1]

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN. [1]; DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN. [2]

Introducción y Objetivos: Las aves comerciales constituyen reservorios naturales de *Salmonella* Enteritidis (SE). Carne de pollo y huevos son una fuente importante de contaminación con esta bacteria involucrada en brotes de intoxicaciones alimentarias. Los bacteriófagos, virus que infectan y lisan bacterias, abundan en la naturaleza y son inofensivos para la salud pública. El objetivo del trabajo fue determinar diferencias entre la aplicación de un cóctel de fagos, desinfectante y la combinación de ambos en la disminución de SE en tres superficies distintas de uso en avicultura contaminadas experimentalmente con esta enterobacteria.

Materiales y Métodos: El cóctel de bacteriófagos formado por cinco fagos que presentaron actividad lítica frente a SE, fueron mezclados en igual proporción con una concentración final de 10^9 unidades formadoras de colonia por ml (UFP/ml). El desinfectante usado fue amonio cuaternario. La cepa de SE se aisló de una planta de incubación de la zona de Luján. Las superficies donde se realizaron los ensayos fueron 12 rectángulos plásticos de polipropileno (PPP) de 330 cm^2, 12 trozos de cinta transportadora de 150 cm^2 y 12 trozos de rejas metálicas de 50 cm^2. Los materiales se sumergieron en un recipiente con un cultivo de 18 h de SE, secados en flujo laminar e incubados 60 minutos a 37°C. Luego, cada material se dividió en 4 grupos: 3 se rociaron con el cóctel de fagos, 3 con amonio, 3 con una mezcla de amonio y cóctel de fagos y 3 como control sin rociar. Los materiales se secaron en flujo laminar y se incubaron a 37°C durante 3 horas. Se conformó 12 tratamientos: Metal/Fagos; PPP/Fagos; Cinta/Fagos; Metal/Amonio; PPP/Amonio; Cinta/Amonio; Metal/Amonio y Fagos; PPP/Amonio y Fagos; Cinta/Amonio y Fagos; Metal/Control; PPP/Control; Cinta/Control. Luego, se tomaron muestras de las superficies con un hisopo que fue sumergido en 50 ml de solución fisiológica. Posteriormente, se realizó el recuento en placa para determinar la cantidad de unidades formadoras de colonia por cm^2 (UFC/cm^2) de SE. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante las pruebas de Kruskall-Wallis y la mediana con un nivel de significancia de 0,1.

Resultados: Con ambas se registró diferencias entre tratamientos. El metal fue la superficie con menor promedio de UFC/cm^2 y el mayor fue en PPP. Todas las superficies que fueron rociadas presentaron valores de UFC/cm^2 menores a la mediana de los controles. A posteriori, se realizaron comparaciones múltiples entre los tratamientos, encontrando diferencias estadísticamente significativas entre las superficies rociadas con amonio y el control.

Conclusiones: Los bacteriófagos disminuyen la carga bacteriana en superficie, pero no al mismo nivel que el desinfectante cuando ambos se aplican en una única dosis. Sin embargo, los fagos podrían ser considerados como una alternativa complementaria para el control de SE sobre superficies, y así evitar el uso masivo de tratamientos químicos que pueden favorecer la selección y proliferación de bacterias resistentes.

MI 135

0351 - IMPLICANCIA DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (TNFA) EN LA RESPUESTA INFLAMATORIA DESENCADENADA POR ALFAHERPESVIRUS EN EL SISTEMA NERVIOSO DE TERNEROS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE

BURUCÚA, Mercedes María [1] | ROSALES, Juan José[2] | PÉREZ, Sandra[2] | ODEÓN, Anselmo[3] | MARIN, Maia[1]

CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [1]; CIVETAN-CONICET, FCV-UNCPBA, CICPBA [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [3]

Introducción y Objetivos: Los herpesvirus bovinos tipo 1 (BoHV-1) y 5 (BoHV-5) son dos alfa-herpesvirus estrechamente relacionados. El BoHV-5 es el principal agente causal de encefalitis viral en terneros, mientras que el BoHV-1 solo la produce ocasionalmente. TNFa es un factor crítico en la respuesta pro-inflamatoria contra distintos patógenos. Sin embargo, su rol en la neuropatogenia de BoHV no ha sido estudiado. El objetivo de este trabajo fue determinar las variaciones en la expresión de TNFa en el sistema nervioso de terneros infectados experimentalmente con BoHV-1 o 5 durante la infección aguda [6 días post-infección (dpi)], latencia (24 dpi) y reactivación (mediante inmunosupresión con dexametasona, 25 dpi).

Materiales y Métodos: Se utilizaron 2 animales infectados con BoHV-1 o 5 durante cada etapa del ciclo infeccioso y 2 como control. A partir de corteza olfatoria, frontal y posterior, médula cervical y ganglio trigémino (GT) se determinó la expresión génica de TNFa mediante RT-qPCR, utilizando el gen GAPDH como control.

Resultados: El ARNm de TNFa fue detectado en la mayoría de las muestras evaluadas. La infección aguda con BoHV-1 indujo un incremento de 3,6 veces ($p<0,05$) en la expresión de TNFa tanto en corteza frontal como posterior. Durante la latencia de este virus, sólo se observó una modulación negativa en la médula cervical (0,6 veces, $p<0,05$), mientras que la reactivación de BoHV-1 indujo una disminución en la expresión génica de esta citoquina en la corteza olfatoria (0,4 veces) con respecto a los animales control y una sobreexpresión en corteza posterior (60,4 veces). Con respecto a BoHV-5, tanto la infección aguda como la reactivación de este virus modularon positivamente la expresión de TNFa en sistema nervioso central y GT. Este incremento durante el pico de infección aguda se observó en la corteza frontal (3 veces) y particularmente en GT (129 veces), mientras que la reactivación de BoHV-5 indujo su expresión en corteza posterior (49,1 veces) y también en GT, sitio en el cual la transcripción de TNFa fue detectada solo en terneros infectados.

Conclusiones: Los hallazgos descriptos en este trabajo demuestran una modulación diferencial de la expresión de TNFa durante las infecciones con dos alfaherpesvirus bovinos relacionados. La inducción de esta citoquina en presencia de virus activo, particularmente de BoHV-5, podría relacionarse con la mayor respuesta inflamatoria y las lesiones de encefalitis necrotizante inducidas por este virus durante la respuesta inmune desencadenada en sistema nervioso. Trabajos previos han demostrado un aumento exacerbado en la expresión de receptores innatos (TLRs), así como de moléculas inmunomoduladoras y otras citoquinas (BMAP28 e IFNß) durante la infección por BoHV-5, posiblemente reflejando la respuesta innata en tejido nervioso para contener la infección, asociada a la eliminación viral temprana. La comprensión del proceso inflamatorio en las infecciones hespesvirales sería útil para generar herramientas que mejoren las estrategias preventivas y terapéuticas.

MI 136

0347 - EHRLICHIOSIS CANINA EN EL NORDESTE ARGENTINO: CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA POR PCR. RESULTADOS PRELIMINARES

MANSILLA FERNÁNDEZ, Silvia Lorena [1] | SOTELO, Ailin Angélica[2] | DELGADO, María Belén[1] | CAINZOS, Romina Paola[1] | DELUCA, Gerardo Daniel[2] | KOSZCINCZUK, Patricia[1]

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [1]; FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [2]

Introducción y Objetivos: Ehrlichia es un género de bacterias de vida intracelular obligadas, gramnegativa, inmóvil, pleomórfica, envuelta en una membrana externa delgada ondulada (Rikihisa et al. 1997). Se compone de un único cromosoma circular que contiene 1315030 nucleótidos (Mavromatis et al. 2006). La ehrlichiosis canina se presenta principalmente durante la estación cálida cuando el vector, la garrapata Rhipicephalus sanguineus, está activa (Harrus S., Waner T. 2011). Las garrapatas son reconocidas por su capacidad de parasitar vertebrados domésticos, silvestres y al hombre, lo cual puede resultar en problemas sanitarios (Guglielmone A., Nava S, 2005). Se ha demostrado que el vector se infecta con Ehrlichia dentro de las primeras 3 horas que se alimenta de la sangre de un hospedador infectado (Sainz A. et al., 2015). La enfermedad presenta tres fases: aguda, subclínica y crónica luego de un período de incubación variable de entre 8 y 20 días. La gravedad de la fase y la presentación de diversos signos clínicos dependerán de la virulencia de la cepa, el estado inmune del animal, la edad, el estrés y la presencia de enfermedades concurrentes (Nosach N. et al 2018). El propósito de este estudio fue confirmar la presencia del agente en 45 caninos de las provincias de Corrientes y Chaco.

Materiales y Métodos: Las muestras de sangre periférica anticoaguladas con EDTA se procesaron entre Junio de 2018 y Abril de 2019. Todos los pacientes presentaban trombocitopenia, frotis con inclusiones citoplasmáticas en monocitos o plaquetas y respondieron al tratamiento con doxiciclina. Para la extracción de ADN se utilizó un método comercial por columnas (High pure PCR Template Preparation kit, Roche), siguiendo las especificaciones del fabricante. Se llevó a cabo la detección de beta actina canina según (Peleg et al. 2010) para corroborar la calidad del proceso de extracción. Para la detección del patógeno se amplificó un segmento del gen dsb 330-728 y el 321-671 (Doyle et al. 2005, Aguiar et. al. 2007) en paralelo. Para reacciones de 10 µL finales se utilizó 0.6 µM de cada par de cebadores, 2.5 mM y HotFirepol Taq de Solis Biodyne según especificaciones del fabricante. Las condiciones de ciclado fueron 95 Cº durante 5 min, 35 ciclos de 95 Cº durante 1 min, 58 Cº durante 1 min, 72 Cº durante 1 min y un paso de alargamiento final de 72 Cº durante 5 min. Los productos de PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 2%.

Resultados: La puesta a punto de la técnica de PCR permite confirmar la sospecha clínica en etapas tempranas de la enfermedad donde no es posible detectar anticuerpos, o en fases subclínicas donde el hallazgo de mórulas es menos frecuente. Esta técnica permitió confirmar la infección en un 9% de los pacientes (4/45).

Conclusiones: Este trabajo confirma la infección de caninos de Corrientes y Chaco lo cual sumado a las condiciones climáticas favorables para el vector predispone al mantenimiento de la enfermedad. Esto debería impulsar la concientización en el personal de salud y población para diagnosticar y tratar a los caninos enfermos evitando la propagación de la enfermedad, entre caninos como en humanos (zoonosis).

MI 137

0779 - CARACTERIZACION DE *ESCHERICHIA COLI* NECROTOXIGENICA ASOCIADA A SEPTICEMIA Y MENINGITIS EN TERNEROS DE CRIA PARA CARNE

GONZALEZ, Ramon Alejandro [1] | LOUGE URIARTE, Enrique L.[2] | MORRELL, Eleonora L.[3] | FIORENTINO, María, A.[1] | SOTERAS, Alejandro[4]

DEP. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, LAB. DE BACTERIOLOGÍA, INTA EEA BALCARCE [1]; DEP. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, LAB. VIROLOGÍA, INTA EEA BALCARCE [2]; DEP. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, LAB. PATOLOGÍA VETERINARIA, INTA EEA BALCARCE [3]; DEP. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, RESIDENCIA SALUD ANIMAL, INTA EEA BALCARCE [4]

Introducción: *Escherichia coli* patógena extraintestinal (ExPEC) causa infecciones fuera del tracto digestivo y este patotipo incluye cepas septicémicas (SePEC). Su virulencia se atribuye a fimbrias (P y F17), adhesina afimbrial (Afa-VIII), antígeno CS31A, resistencia al suero y fagocitosis, producción de toxinas, entre ellas factor necrotizante citotóxico 1 y 2 (CNF1 y CNF2), toxina de distensión citoletal (CDT) y alfa-hemolisina (α-Hly). E. coli necrotoxigénica (NTEC) se define por su capacidad de producir CNF y es causa de diarrea y septicemia en terneros. NTEC suele clasificarse como SePEC, ya que tiene propiedades de virulencia compartidas. Objetivos: describir el hallazgo de aislamientos NTEC asociados a septicemia y meningitis en terneros de rodeos de carne y caracterizar sus perfiles de genes de virulencia (GV), grupos filogenéticos (GF), resistencia antimicrobiana y presencia de integrasas.

Caso Clínico: Caso I. Mortandad de terneros (10%) que manifiestan debilidad, incoordinación, depresión, decúbito y muerte en 2-4 días. De un ternero <= 3 días de vida se colectaron muestras de órganos y líquido articular para diagnóstico. Histopatología: meningitis fibrinosupurativa difusa severa; neumonía supurativa leve; miocarditis supurativa leve. Bacteriología: *E. coli* aislada de líquido articular (LA245) y cerebro (CR246), confirmadas por PCR del ARNr 16S. Perfiles de GV: *f17G, fimA, iucD, cnf2, cdt* (LA245) y *f17G, iucD, cnf2, cdt* (CR246), ambos clasificados como NTEC2. No se pudieron asignar a ningún GF. El antibiograma mostró multirresistencia (ERY-TIL-PEN-AM-AML-OT-CL, CR246) y no se detectaron genes para integrasas clase 1 y 2, indicando ausencia de integrones de dichas clases. Caso II. Mortandad de terneros (70%) que cursan con diarrea y depresión de 2 días de duración. Los tratamientos con oxitetraciclina no mostraron eficacia terapéutica. Se realizó necropsia de un ternero observando asas intestinales distendidas con abundante líquido amarillo, marcada congestión de vasos sanguíneos epiesclerales y subcutáneos, linfonódulos mesentéricos, hígado, riñón y bazo; petequias en abomaso, rumen y epicardio. Se colectaron muestras de órganos para diagnóstico. Histopatología: encefalitis no supurativa multifocal leve; pericarditis hemorrágica severa; neumonía intersticial mixta moderada; linfadenitis supurativa. Se detectó coronavirus y rotavirus por inmunocromatografía. Bacteriología: *E. coli* aislada de bazo, hígado y pulmón (PM247), confirmada por PCR del ARNr 16S. Perfil de GV: f17G, fimA, iucD, cnf2, cdt, papC (PM247). La cepa no se clasificó en ningún GF, resultó multirresistente (K-POL-TET-OT-ERY-TIL-AMC-AML-AM-CL-CEF) y no se detectaron genes para integrasas de clase 1 y 2.

Conclusiones: Las cepas NTEC2 multirresistentes causan meningitis y septicemia en terneros de rodeos de carne, a pesar de que ambas patologías son más frecuentes en tambo. Por primera vez en Argentina, se demuestra esta asociación etiológica. La información obtenida es útil para el diagnóstico, tratamiento y futuro desarrollo de vacunas contra cepas autóctonas.

MI 138

0975 - RELEVAMIENTO SEROLOGICO DE LEPTOSPIROSIS CANINA EN EL NOROESTE ARGENTINO

CASTILLO, Pablo | TUZINKIEVICZ, Tamara | MUNILLA LACASA, Bernardita | ASCUE, Julian | WILCKE, Gabriela | IVANISSEVICH, Ana | MUÑOZ, Alejandra

UNIVERSIDAD DEL SALVADOR

Introducción y Objetivos: La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de importancia mundial; *Leptospira interrogans*, su agente causal; es patógena para el hombre y para los animales. Los serovares predominantes en todo el mundo en el perro son *canicola*(Can) e *icterohaemorrhagiae*(Ich). La leptospirosis humana es una enfermedad endémica en muchos países, quizá en todo el mundo. Por su estrecho contacto con sus dueños, los caninos podrían ser la causa de origen de la enfermedad en el humano sumado al hecho de que éstos pueden eliminar bacterias en orina por meses sin presentar ningún signo clínico; cumpliendo, un rol importante en la epizootiología; ya que son reservorios y también actúan como indicadores epidemiológicos de la enfermedad en un área determinada. Teniendo en cuenta estas cuestiones, se decidió llevar a cabo un relevamiento serológico de la enfermedad en caninos que residen en zonas urbanas, en el Noroeste Argentino.

Materiales y Métodos: Se tomaron muestras en Gdor. Virasoro, Corrientes y Oberà, Misiones. Se trató de un estudio observacional de corte transversal, exploratorio. El muestreo fue probabilístico al azar, realizados en centro de zoonosis y veterinarias privadas. El criterio de inclusión, fue caninos que no hayan recibido vacuna contra leptospirosis. Para el diagnóstico se utilizó el Test de microaglutinación microscópica (MAT).

Resultados: De los 190 sueros obtenidos de los caninos muestreados, fueron analizados con la técnica de MAT (microaglutinaciòn microscópica test) mostrando una tasa de reactividad del 25.2 % (48 muestras) y un 74.8 % no reactivos. De las 48 muestras reactivas 21 correspondieron al serovar *Canicola*(títulos de $1/100^{11}$,$1/200^{3}$,$1/400^{2}$,$1/800^{2}$ y $1/3200^{1}$); 16 al *Icterohaemorragiae* ($1/100^{10}$,$1/200^{2}$,$1/400^{4}$); 11 al *Ballun*(Ba) (1/100); 6 a *Pomona* ($1/100^{4}$ y $1/200^{2}$); y 2 *Pyrógenes*(Py) (1/200).

Conclusiones: Si bien los resultados obtenidos marcan la presencia de anticuerpos contra el agente; no hubo correlación entre sexo, edad y procedencia con la presencia o no de ellos. Se corrobora que los serovares Ich. y Can. son los más prevalentes en los caninos; se observa reactividad a Ba. y Py. relacionados con portadores roedores. El 73% presento uno, el 16% dos y el 11% tres o más serovares. Los animales estudiados no presentaban sintomatología (aun aquellos con títulos elevados > 1/800 que se suponen estarían cursando enfermedad), esto demuestra la presencia de animales portadores; lo que aumenta el riesgo de la transmisión al humano. Resultan primordiales estos análisis para detectar animales asintomáticos que pudieran estar liberando bacterias al medio por la orina y así diagnosticar la presencia de la enfermedad en los humanos convivientes o el riesgo a padecerla. En conclusión, el resultado del estudio nos obliga a tomar medidas que fomenten la prevención y educación acerca de la enfermedad, dirigidas a la comunidad.

CAM - Parasitología básica

MI 139

0207 - DISEÑO DE UN MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *TRICHINELLA PATAGONIENSIS*

KRIVOKAPICH, Silvio | GATTI, Graciana

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA, INEI, ANLIS " DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: La trichinellosis es una zonoosis causada por el consumo de carne cruda o mal cocida proveniente de animales infectados con Trichinella spp. El género *Trichinella* está compuesto por nueve especies y tres genotipos. La especie *T. patagonienis* fue descripta recientemente en Argentina y representa la única especie autóctona de la región neotropical. Los miembros de *Trichinella* constituyen un complejo de especies gemelas que no presentan diferencias morfológicas que permitan distinguirlas, y por ende su identificación a nivel especie/genotipo se realiza principalmente mediante biología molecular. La PCR multiplex anidada de distintas regiones del ADN ribosomal nuclear (ADNr) es la técnica más empleada para este fin, y permite la identificación a partir de una única larva muscular. Sin embargo, *T. patagoniensis* aún no se puede diferenciar por este método, y para ello se debe recurrir a la secuenciación de distintas regiones del genoma nuclear y/o mitocondrial. El objetivo del presente estudio fue desarrollar un sistema identificación de *T. patagonienis* mediante la detección específica de un segmento del ADNr.

Materiales y Métodos: Se amplificó por PCR el ADNr de la especie autóctona mediante un par de cebadores empleados en la PCR multiplex anidada, que amplifican con todos los miembros de *Trichinella*. Los productos de PCR se clonaron en un vector plasmídico y se realizó la secuenciación nucleotídica. Luego se construyó un alineamiento múltiple de la secuencia de ADN obtenida con las secuencias del resto de las especies y genotipos del género, y se diseñó un juego de cebadores específicos para un segmento del espaciador transcripto interno 2 (ITS2) del ADNr de *T. patagonienis*. Finalmente, se realizó una prueba de amplificación del ITS2 a partir de dos aislamientos de *T. patagoniensis* empleando por un lado el ADN purificado de un conjunto de larvas

musculares y por el otro el ADN obtenido de larvas individuales. Además, se evaluó la amplificación de estos cebadores con los restantes 11 miembros del género.

Resultados: Se obtuvo la generación de un producto de PCR esperado de 410pb con ambos aislamientos de *T. patagonienis* analizados, y tanto con el ADN obtenido de un conjunto de larvas como de larvas individuales. No sé observó amplificación con los otras especies y genotipos.

Conclusiones: Estos resultados señalan que los cebadores diseñados en el presente estudio permiten una detección específica y de alta sensibilidad de la región ITS2 de *T. patagoniensis*. No obstante, este método de identificación debería ser evaluado en un número más amplio de aislamientos del parásito, y en esta instancia debería usarse en conjunto con la secuenciación de otros marcadores que son empleados para la identificación de *Trichinella spp.* , como el gen mitocondrial de la subunidad I de la citocromo c-oxidasa y/o la región del espaciador intergénico del ADN ribosomal nuclear 5S.

MI 140

0245 - DESCUBRIMIENTO ASISTIDO POR COMPUTADORA DE NUEVOS INHIBIDORES DE LA CRUZIPAÍNA DEL TRYPANOSOMA CRUZI

LUCHI, Adriano Martin [1] | BOGADO, María Lucrecia[2] | ANGELINA, Emilio Luis[1] | PERUCHENA, Nélida María[1]

IQUIBA-NEA [1]; IQUIBA-NEA [2]

Introducción y Objetivos: En la investigación farmacéutica, los métodos convencionales para encontrar compuestos con actividad por un blanco molecular determinado incluyen el cribado aleatorio automatizado (HTS, por sus siglas High Throughput Screening) de bibliotecas físicas de moléculas para identificar, mediante ensayos in-vivo/vitro, aquellas capaces de unirse a un determinado blanco molecular. Si bien en las campañas de HTS se exploran miles de compuestos, dado que el espacio químico es tan vasto (~10^60 – 10^{1}00 moléculas), cualquier colección de compuestos cubre una porción insignificante de este espacio. En contraste, el cribado virtual basado en la estructura del receptor (CVBR) se apoya en el conocimiento de la estructura tridimensional del blanco molecular y en la habilidad de los algoritmos de docking para predecir el modo de unión y las energías de interacción de diferentes compuestos. Las moléculas mejor ranqueadas son adquiridas y ensayadas experimentalmente. Esta aproximación tiene la ventaja de muestrear una porción mayor del espacio químico, con un costo mucho menor. Actualmente, la Cruzipaína (Cz), la principal cisteína proteasa de T. cruzi, ha adquirido gran relevancia para el diseño de fármacos basado estructura ya que se encuentran depositadas, en el Protein Data Bank, 25 estructuras de la enzima co-cristalizada con diferentes inhibidores reversibles e irreversibles. Aprovechando la información estructural disponible de complejos Cz-inhibidor con sus correspondientes anotaciones de afinidad, en un trabajo previo se realizó el análisis topológico de la densidad electrónica para identificar cuáles eran las interacciones clave responsables del evento de unión. El conocimiento adquirido en ese estudio retrospectivo se utilizó en este trabajo para guiar la búsqueda de nuevos candidatos a inhibidores mediante el cribado virtual de compuestos adquiribles comercialmente.

Materiales y Métodos: A partir del análisis de los grafos moleculares de la densidad electrónica de los complejos Cz-Inhibidor, se construyó un farmacóforo basado en interacciones que da cuenta de las capacidades comunes de interacción de todos los inhibidores. Dichas interacciones fueron introducidos a modo de puntos farmacofóricos (PFs) en el algoritmo de docking para guiar las soluciones de los cálculos de docking. Los parámetros de estos PFs se ajustaron de manera de reproducir los modos de unión de inhibidores conocidos sobre la Cz. (docking retrospectivo).

Resultados: Con los parámetros del docking optimizados se realizó el CV de una librería con 14 millones de compuestos depositados en la base de datos ZINC15 (zinc15.docking.org). De los compuestos mejor ranqueados, se seleccionaron 11 que serán ensayados para validar las predicciones computacionales.

Conclusiones: El protocolo de CV presentado, en el cual las predicciones computacionales son "guiadas" por la densidad electrónica, representa una mejora en relación a los experimentos de CV convencionales destinados a la búsqueda de nuevos inhibidores enzimáticos.

MI 141

0966 - ¿AFECTA LA COMPOSICIÓN ANTIGÉNICA DEL LÍQUIDO HIDATÍDICO DE DIFERENTES GENOTIPOS LA EVALUACIÓN SEROLÓGICA DE PACIENTES CON HIDATIDOSIS?

DEBIAGGI, Maríaflorencia | LAZZARINI, Lorena | SORIANO, Silvia | PIERANGELI, Nora

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

Introducción y Objetivos: El diagnóstico de la hidatidosis humana (HH) se realiza fundamentalmente por imágenes y se complementa con serología. Sin embargo, el inmunodiagnóstico no se utiliza frecuentemente ya que el desempeño analítico es dispar y depende de factores tales como el origen y pureza de la fuente antigénica, las características del quiste hidatídico (QH) (localización, estadio, genotipo, entre otros) y del estado inmunológico del paciente. Las diferencias entre genotipos generan una importante variabilidad antigénica, que podría afectar los resultados de las pruebas serológicas. El líquido hidatídico (LH) es la fuente de antígenos (Ag) más utilizada en el inmunodiagnóstico de HH. Los Ag más importantes del LH son el Ag5 y el AgB. Se ha demostrado que el AgB es polimórfico según el genotipo del parásito. No ha sido evaluado el efecto del genotipo de la fuente antigénica en el resultado de las pruebas serológicas. El Western Blot (WB) permite evidenciar anticuerpos contra Ag separados por SDS-PAGE y fijados a una membrana. El objetivo del trabajo fue evaluar si la composición antigénica de LH de diferentes genotipos afecta la detección de anticuerpos mediante WB en pacientes con hidatidosis confirmada.

Materiales y Métodos: Se aplicó un diseño prospectivo, descriptivo, observacional. El estudio fue aprobado por la Comisión Asesora de Investigaciones Biomédicas en Seres Humanos de Neuquén. Se incluyeron en el estudio 10 pacientes de hospitales de Neuquén con hidatidosis confirmada por cirugía. Los QH de los pacientes fueron caracterizados como genotipo G1 por secuenciación parcial de cox-1. Se obtuvo suero de los pacientes al momento de la cirugía para la detección de anticuerpos IgG anti *Echinococcus granulosus* por un test de ELISA IgG comercial y WB. Como fuente antigénica para WB se utilizaron LH de 2 genotipos diferentes (G1 y G6). La respuesta inmune humoral se evidenció por WB enfrentando los sueros de los pacientes a las fracciones proteicas de los LH G1 y G6, empleando patrones de peso molecular.

Resultados: Todos los pacientes fueron positivos para el test de ELISA. En las corridas de WB, al enfrentar el suero de pacientes infectados con QH de genotipo G1 con LH G1, se obtuvieron 14/15 bandas, mientras que con LH G6 8/10 bandas. Se observaron además diferencias en la localización de las bandas. Sin embargo la banda de AgB (8 KDa) estuvo presente en todas las corridas.

Conclusiones: El suero de pacientes infectados con *E. granulosus* G1 reconoció mediante WB la presencia de epitopes antigénicos dominantes, entre ellos AgB y Ag5, utilizando LH de ambos genotipos, aunque con diferencias en la cantidad y posición de algunas bandas. Los resultados permiten concluir que la composición antigénica de LH de diferentes genotipos afecta la evaluación serológica mediante WB de pacientes con hidatidosis. En consecuencia, el genotipo y perfil antigénico del LH deberían considerarse en las pruebas serológicas para el diagnóstico adecuado de pacientes infectados con diferentes especies y genotipos del parásito.

CAM – Vacunas

MI 142

0098 - VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL HUMANO: CLONACIÓN DEL GEN DE LA PROTEÍNA DE FUSIÓN F EN PET28B+

PALAZON, Eliana Gisel [1] | FERELLA, Alejandra[2] | GONZALEZ, Fernanda Noemi[2] | VIDELA, Cristina[3] | VINTIÑI, Elisa Ofelia[4] | ZAMORA, Ana Maria[5] | DUS SANTOS, María José[2] | MEDINA, Marcela Susana[1]

FACULTAD DE BIOQUIMICA, QUIMICA Y FARMACIA. CONICET. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA), CICVYA, INSTITUTO DE VIROLOGÍA E INCUINTA [2]; CEMIC [3]; LARIVENOA. FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN [4]; FACULTAD DE BIOQUIMICA, QUIMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN. [5]

Introducción y Objetivos: El Virus Respiratorio Sincicial Humano (HRSV) causa infecciones respiratorias agudas bajas que conducen a morbilidad y mortalidad en niños, ancianos y adultos inmunocomprometidos, lo que representa un importante problema de salud pública. HRSV es un pneumovirus que posee en su envoltura una proteína de fusión F responsable de la penetración y propagación del virus en epitelio respiratorio. Esta proteína, antigénicamente conservada en los 2 subtipos virales (A y B) de HRSV, induce "in vivo" anticuerpos neutralizantes que limitan la replicación viral. El desarrollo de una vacuna segura y efectiva para el HRSV ha ocupado décadas de investigación y la proteína F constituye uno de los blancos antigénicos más estudiados. Objetivo: Realizar la clonación del gen de la proteína F de HRSV usando como vector pET28b+ en *E. coli* XL1 para la posterior expresión de proteína F.

Materiales y Métodos: La cepa LONG A de HRSV fue propagada en células Hep-2. Las monocapas celulares de Hep-2 fueron infectadas con el virus e incubadas a 37°C en incubador de CO2 al 5% durante 3-4 días. Las células infectadas se cosecharon y congelaron a -70°C. Luego, a partir de una alícuota de este cultivo se realizó la purificación de ARN con kit comercial, retrotranscripición del RNA viral y amplificación de *gen F* por PCR con primers específicos. El amplicón fue clonado en pGEM Easy vector-T por ligación con T4 ligasa. La transformación de *E. coli* XL1 con el plásmido vector se hizo por técnica de electroporación. Las colonias que portaban el plásmido se seleccionaron por método Blue/White. A continuación, se realizó la clonación del *gen f* en plásmido de expresión pET28b+, seleccionando colonias por resistencia a kanamicina.

Resultados: Se obtuvieron clones positivos para *gen F* en pGEM=*E. coli*XL1-F y para pET28b+=*E. coli*XL1-F. La identidad del fragmento clonado fue confirmada por PCR, análisis del perfil de restricción y secuenciación

Conclusiones: Se logró clonar exitosamente el *gen f* de HRSV, en el vector de expresión pET28b+ que será empleado para transformación de *E. coli* BL21 DE3. La antigenicidad de la proteína recombinante obtenida (rF) será evaluada en modelo murino y empleada en el desarrollo de una vacuna experimental de mucosas.

MI 143

0209 - OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE NUEVOS INMUNÓGENOS QUE EXPRESAN UNA SECUENCIA TRUNCADA DE LA PROTEÍNA VP2 DEL VIRUS DE LA BURSITIS INFECCIOSA DE LAS AVES

ROMANUTTI, Carina [1] | KELLER, Leticia[2] | ZANETTI, Flavia[3]

CENTRO DE VIROLOGÍA ANIMAL (CEVAN) - CONICET [1]; INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DR. CESAR MILSTEIN - CONICET [2]; INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DR. CESAR MILSTEIN - CONICET [3]

Introducción y Objetivos: La bursitis infecciosa (IBD) es una enfermedad que afecta a pollos jóvenes (produce destrucción de los linfocitos B que maduran en la bolsa de Fabricio) y genera importantes pérdidas económicas en la industria avícola. El agente causal, el virus de la bursitis infecciosa (IBDV), presenta un genoma ARN de doble cadena bisegmentado, el cual está contenido dentro de una cápside icosaédrica no envuelta, compuesta por la proteína viral 2 (VP2). Esta proteína contiene los sitios antigénicos responsables de inducir una respuesta inmune en el hospedador. El control de IBD se realiza principalmente por administración de vacunas basadas en cepas virales atenuadas, que si bien, inducen una respuesta de anticuerpos neutralizantes, generan lesiones en la bolsa interfiriendo en la respuesta a otras vacunas y/o favoreciendo infecciones por otros patógenos. El objetivo de este trabajo fue obtener y evaluar en el modelo murino, nuevos inmunógenos que expresen una secuencia truncada de la proteína VP2 del IBDV.

Materiales y Métodos: En trabajos anteriores del grupo, se obtuvieron y evaluaron en ratones, a) un adenovirus humano recombinante no replicativo, serotipo 5, y b) un inmunógeno basado en el plásmido pXL, ambos portando la secuencia codificante para la VP2 madura de IBDV (Ad-VP2 y pXL-VP2). Tres inmunizaciones con el pXL-VP2 o combinando pXL-VP2/Ad-VP2 indujeron títulos neutralizantes de IBDV de 1024. En este trabajo, se obtuvieron los mismos vectores recombinantes, pero, portando una secuencia truncada del gen vp2, comprendida entre los nucleótidos 57 y 412, que codifica para la región descripta como más inmunogénica de ésta proteína y se los denominó: Ad-VP2short y pXL-VP2short. La identidad se corroboró por secuenciación y la expresión del inserto se constató por Western blot. Luego, se evaluó, en el modelo murino, su capacidad inmunogénica. Para ello, se inmunizaron por vía im y cada 21 días, 6 grupos (G) de 5 ratones hembras de 7 semanas (cepa BALB/C) con dosis de 100 ug de plásmido ó 5x108 UFP de Ad, según se indican a continuación: G1: pXL-VP2short (3 dosis); G2: pXL (3 dosis); G3: pXL-VP2short (1 dosis) + pXL-VP2 (2 dosis); G4: pXL (1 dosis) + pXL-VP2 (2 dosis); G5: pXL-VP2 (1 dosis) + Ad-VP2short (1 dosis) y G6: pXL (1 dosis) + Ad-GFP (1 dosis). En los sueros se analizó la presencia de anticuerpos totales contra VP2 y neutralizantes de IBDV por ELISA y seroneutralización, respectivamente.

Resultados: Se obtuvieron valores de DO de 0,258 (G1), 0,299 (G2), 2,348 (G3), 1,474 (G4), 2,183 (G5) y 0,138 (G6) por ELISA. Los títulos neutralizantes de IBDV fueron <2 para G1, G2 y G6; de 512 para G4 y de 1024 para G3 y G5.

Conclusiones: Estos resultados indican que si bien la versión VP2short no indujo una respuesta humoral contra IBDV por sí misma (G1) fue capaz de primar una respuesta inmune específica (comparación G3 y G4) como así también de reforzarla e inducir altos títulos de anticuerpos anti IBDV (G5). A futuro se evaluará la inmunogenicidad y la eficacia de los candidatos vacunales en el pollo, hospedador natural de IBDV.

MI 144

0309 - EXPRESIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA NUCLEOPROTEINA DEL VIRUS DISTEMPER CANINO OBTENIDA DE UNA CEPA LOCAL, CON POTENCIAL APLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE INMUNOGENOS DE NUEVA GENERACIÓN

GALLO CALDERON, Marina [1] | ROMANUTTI, Carina[1] | BOADO, Lorena[2] | KELLER, Leticia[2] | LA TORRE, Jose Leonardo[1]

CENTRO DE VIROLOGÍA ANIMAL (CEVAN) - CONICET [1]; INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DR. CESAR MILSTEIN - CONICET [2]

Introducción y Objetivos: El Virus Distemper Canino (VDC), miembro del género Morbillivirus, familia Paramyxoviridae, se encuentra en todo el mundo, afectando a mascotas y a especies silvestres. Si bien existen

vacunas atenuadas, en los últimos años, se han registrado en nuestro país y a nivel mundial, un aumento de casos de DC (tanto en animales vacunados como en no vacunados). Dada la falta de actualización de las cepas vacunales, y al poseer el VDC un genoma a ARNsc, (con alta tasa de mutación), surgen cepas emergentes pobremente protegidas por los anticuerpos vacunales. En el ICT Milstein se viene realizando el diagnóstico molecular del VDC, entre otros patógenos caninos, lo cual nos permite estudiar las cepas salvajes que se encuentran circulando. Por otro lado, nos hemos propuesto el desarrollo de inmunógenos de nueva generación, para lograr un mejor y efectivo control de esta enfermedad. En este sentido, en un trabajo anterior, se reportó el clonado y la optimización de la expresión de la Nucleoproteína (NP) de VDC, de una cepa local, en *Escherichia Coli*. El objetivo del presente trabajo fue purificar la NP e iniciar su estudio como inmunógeno, en el modelo murino.

Materiales y Métodos: A partir de cultivos de *E. Coli BL21* conteniendo el vector de expresión procariota (pRSET-B) con el gen completo de la NP de una cepa local, se realizaron inducciones por 5 hs a 37°C, con 1 mM de IPTG en medio LB. Los cultivos bacterianos, se lisaron mediante sonicación y tanto la fracción soluble como los cuerpos de inclusión fueron purificados por cromatografía de afinidad utilizando una resina de Cobalto. El análisis de la expresión y purificación, se realizó por SDS-PAGE con tinción de Coomassie Blue y, Western blot utilizando un anticuerpo monoclonal (mAb) anti NP. Se cuantificó la NPr obtenida mediante una curva de BSA, obteniendo una concentración estimada de 0.4 mg/ml y se puso a punto un ELISA con sueros caninos disponibles en el laboratorio y el mAb anti NP. Se determinó que 0.25 ug/ml de NPr era la óptima concentración para utilizar en los ELISA posteriores. Por otro lado, ratones Balb/c fueron inmunizados cada 15 días, por vía intraperitoneal, con 3 dosis conteniendo 10 ug de NPr purificada e hidróxido de Aluminio como adyuvante o con PBS. A las 2 semanas de la última inmunización, se colectaron muestras de sangre y con los sueros, se realizaron ensayos de ELISA y seroneutralización.

Resultados: Los ratones inmunizados con la NPr indujeron títulos mayores (3.7) a los títulos obtenidos con los ratones inmunizados con PBS (1.7), sin embargo, estos sueros no lograron neutralizar al virus en cultivo.

Conclusiones: Si bien los resultados presentados en este trabajo son preliminares, se logró obtener y purificar, por primera vez, la NPr de una cepa salvaje de VDC, utilizándose como inmunógeno en el modelo murino. Se planea a futuro estudiar la respuesta celular de estos animales, y eventualmente combinar el inmunógeno obtenido, en un esquema *prime-boost* heterólogo.

MI 145

0362 - SIGNIFICATIVA REDUCCIÓN DE LA CARGA DE ENFERMEDAD DIARREICA ASOCIADA A ROTAVIRUS LUEGO DE LA IMPLEMENTACIÓN DE LA VACUNACIÓN UNIVERSAL EN ARGENTINA

DEGIUSEPPE, Juan Ignacio | STUPKA, Juan | RNVLGV, Red Nacional

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: En el año 2006, la Organización Mundial de la Salud recomendó la incorporación de la vacuna contra el rotavirus en los Calendarios Nacionales de Vacunación con el objetivo de disminuir la carga de enfermedad severa asociada a este enteropatógeno viral en los menores de 5 años. Si bien en la Región de las Américas esta introducción se logró rápidamente, Argentina incorporó esta vacuna en el año 2015. Asimismo, no se diseñó una estrategia específica para medir con precisión el efecto de esta intervención en la carga de enfermedad diarreica en nuestro país. En el presente estudio se compararon diversos indicadores asociados a este evento antes y después de la introducción de la vacuna contra el rotavirus en Argentina con el objetivo de evaluar el impacto de esta intervención.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio descriptivo, ecológico y transversal con datos obtenidos de las diversas estrategias que componen el Sistema Nacional de Vigilancia de Salud (C2, SIVILA y SNVS2.0). Los parámetros analizados fueron: tasa de diarreas aguda (global y estacional) y casos de diarrea asociados a rotavirus confirmados por laboratorio en menores de 5 años para los trienios 2012-2014 (pre-vacunación) y 2016-2018 (post-vacunación). La información acerca de los genotipos circulantes fue obtenida del Laboratorio Nacional de Referencia. Para el análisis comparativo entre los trienios se construyeron tablas de contingencia y se utilizó el test de chi-cuadrado considerando un valor de $P<0,05$ como significativo.

Resultados: En el período post-vacunal se observó un descenso del 26,9% en la tasa de diarrea aguda global en los menores de 5 años. Asimismo, la mayor reducción se observó durante el período otoño/invierno (48,2%). La prevalencia global de la diarrea por rotavirus disminuyó un 49,2% y los casos positivos se redujeron en un 66,6%. La curva de distribución semanal de los casos confirmados por laboratorio mostró un significativo achatamiento del pico estacional esperado. Con respecto a los genotipos circulantes en el período post-vacunal, si bien al primer año se observó un desplazamiento significativo a la asociación G2P[4] (~60%), posteriormente disminuyó hasta no detectarse y se observó el aumento de G3P[8], G12P[8] y algunas asociaciones consideradas inusuales.

Conclusiones: En Argentina, la introducción de la vacuna contra el rotavirus en forma universal fue una intervención exitosa observándose una disminución significativa en casos de diarrea aguda de cualquier

etiología y en los casos de rotavirus confirmados en los menores de 5 años. Además, el pico estacional disminuyó abruptamente. La distribución de genotipos mostró un aumento en la diversidad, con patrones de fluctuación interanual. Estos resultados llevan a suponer que la dinámica de circulación de los genotipos de rotavirus está cambiando en nuestro país junto con el perfil de la carga de enfermedad asociada a este virus.

MI 146

0459 - UTILIZACIÓN DE FLAGELINA DE *SALMONELLA* PARA AUMENTAR EL POTENCIAL ADYUVANTE DE PARTÍCULAS DERIVADAS DE LA PARED CELULAR DE *LACTOCOCCUS LACTIS* QUE EXPRESAN ANTÍGENOS DE ROTAVIRUS

SILVESTRE, Dalila [1] | MORENO, Griselda[2] | ARGÜELLES, Marcelo H.[3] | MANDILE, Marcelo G.[1] | PERI IBÁÑEZ, Estefanía Soledad[1] | GLIKMANN, Graciela[3] | RUMBO, Martín[2] | CASTELLO, Alejandro A.[3] | TEMPRANA, C. Facundo[1]

LAB. DE INMUNOLOGÍA Y VIROLOGÍA, DPTO. DE CYT, UNQ / CONICET [1]; INSTITUTO DE ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS Y FISIOPATOLÓGICOS (IIFP, UNLP-CONICET) [2]; LAB. DE INMUNOLOGÍA Y VIROLOGÍA, DPTO. DE CYT, UNQ [3]

Introducción y Objetivos: Los rotavirus son los principales agentes etiológicos de gastroenteritis severa en niños menores de cinco años a nivel mundial. Aunque la vacunación ha logrado reducir los índices de mortalidad, aún continúa la búsqueda de alternativas vacunales más eficaces y seguras, particularmente libres de virus con capacidad replicativa. *Lactococcus lactis* ha sido estudiado como plataforma de *delivery* de antígenos, siendo el sistema de expresión inducido por nisina (NICE) uno de los más utilizados. Recientemente, nuestro grupo logró expresar en *L. lactis* la proteína VP6 de rotavirus dejándola expuesta en la superficie celular, aunque dicho *L. lactis* recombinante administrado por vía de mucosas no indujo una respuesta humoral específica. Por el contrario, cuando se administraron por vía intranasal partículas derivadas de la pared (CWDP) de dichos *L. lactis* conteniendo VP6 se logró una respuesta inmune específica anti-rotavirus. Sin embargo, la misma solo confirió protección frente a la infección cuando las CWDP fueron coadministradas con un adyuvante.

Materiales y Métodos: La expresión de ambas proteínas se evaluó mediante SDS-PAGE en distintas condiciones de inducción. Posteriormente se obtuvieron las CWDP correspondientes y se estudió la presencia de las proteínas recombinantes en la pared mediante SDS-PAGE. Para confirmar la identidad de las mismas se realizaron ensayos de *western blot* utilizando anticuerpos anti-rotavirus y anti-flagelina. Por último, su capacidad para activar el receptor TLR5 fue evaluada *in vitro* utilizando la línea celular reportera Caco-CCL20-Luc.

Resultados: Los resultados muestran que los mayores niveles de expresión de FliC y FliC-VP6 se obtienen con 30 ng/ml y 60 ng/ml de nisina, respectivamente, a una temperatura de 25 °C, aunque la cantidad obtenida de FliC-VP6 fue considerablemente menor. Finalmente, en las condiciones ensayadas *in vitro*, sólo las CWDP conteniendo FliC lograron activar el receptor TLR5.

Conclusiones: En este trabajo se lograron obtener CWDP derivadas de *L. lactis* conteniendo FliC que poseen la capacidad de activar TLR5 *in vitro*. Se planea estudiar su potencial como adyuvante en un contexto de inmunización por vía de mucosas *in vivo*. Para ello se evaluará en un modelo murino la respuesta inmune anti-rotavirus luego de su coadministración, por vía intranasal, con las CWDP conteniendo VP6.

MI 147

0532 - ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD Y CAPACIDAD DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE LA VACUNA CANDID # 1 CONTRA LA FIEBRE HEMORRÁGICA ARGENTINA UTILIZANDO COMO PARAMETRO EL RESULTADO DE POTENCIA

CÉCCOLI, Constanza | BOTTALE, Alejandro J. | FOSSA, Sebastián E. | SAAVEDRA, M. Carmen | RIERA, Laura

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES VIRALES HUMANAS "DR. JULIO MAIZTEGUI", ANLIS

Introducción y Objetivos: Candid # 1 ha demostrado ser segura y eficaz para prevenir la fiebre hemorrágica argentina (FHA). Se produce en el Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" (INEVH). Con su introducción la incidencia de la FHA ha disminuido significativamente. Por poseer un reservorio distinto al humano no es posible su erradicación siendo imprescindible sostener campañas de vacunación. Las vacunas deben llegar a la población de una forma segura y efectiva, por lo que el elaborador debe garantizar la calidad y trazabilidad de los lotes. La calidad de las vacunas es evaluada por ensayos del producto terminado y los requisitos son establecidos por el desarrollador en el marco de regulaciones nacionales e internacionales. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la consistencia de la producción de la vacuna Candid # 1 mediante el análisis estadístico de los ensayos de potencia.

Materiales y Métodos: Se analizó la potencia de 26 lotes de vacuna elaborados y liberados en el INEVH por ser el parámetro directamente asociado a la efectividad. Se determina mediante titulación del virus en células bajo agarosa y se expresa en Unidades Formadoras de Placa (UFP)/ml. El criterio de aceptación es (1.104 - 9.105) UFP/ml (4,0 - 5,9 unidades logarítmicas). Las herramientas estadísticas utilizadas fueron: Gráfico de control y reglas de decisión de Westgard y de Juran para evaluar estabilidad del proceso para lo que se calculó la media de los datos y los límites de control superior (LCS) e inferior (LCI). Indicadores de capacidad a fin de determinar el grado de aptitud para cumplir con las especificaciones técnicas: índice de capacidad del proceso (Cp) para conocer su variabilidad e índice de capacidad real (Cpk) para complementar el Cp ya que considera el centrado (posición de la media respecto a las especificaciones). Si el Cp es mayor a 1, la variabilidad actual del proceso es menor o igual que la permitida. Para que el proceso se encuentre centrado el valor de Cpk debe ser mayor a uno y tener el mismo valor que el Cp.

Resultados: Los resultados obtenidos fueron: La media fue de 4,56 unidades logarítmicas, el LCS = 4,84 y el LCI = 4,27. Todos los resultados individuales cumplieron con las reglas de aceptación. El Cp fue igual a 3,47 siendo el proceso capaz de cumplir la especificación en cuanto a su variabilidad. El Cpk fue de 1,98 evidenciando que la media del proceso no se ubica en el punto medio de las especificaciones. Esta situación puede deberse a que el desarrollador contempló la posibilidad de ajustar condiciones que permitan elevar el título en el producto terminado. Dado que la potencia de la vacuna obtenida ha demostrado su efectividad en ensayos clínicos, la centralidad respecto de las especificaciones no resulta relevante.

Conclusiones: Puede concluirse que, con el parámetro estudiado, el proceso de elaboración de la vacuna Candid # 1 reúne los requisitos de capacidad y estabilidad demostrándose de ese modo la consistencia de su producción.

CAM - Virología básica

MI 148

0082 - PARTICIPACIÓN DE LOS GRÁNULOS DE ARN DURANTE LA REPLICACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B

MICHELETTI, Melisa María | BARBINI, Luciana

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA Y BIOQUÍMICA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UNMDP

Introducción y Objetivos: Aproximadamente 250 millones de personas en el mundo se encuentran infectadas con el virus de la hepatitis B (HBV). Las infecciones crónicas por este virus pueden evolucionar a cirrosis y hepatocarcinoma. Los gránulos de ARN (gránulos de estrés, SGs y cuerpos de procesamiento, PBs) cumplen un rol en la fisiología hepática, por lo que alteraciones en sus funciones podrían participar en los mecanismos fisiopatológicos de las enfermedades del hígado. Probablemente la replicación del HBV podría modular estos mecanismos en el hepatocito infectado y contribuir a la patogenia de la hepatitis crónica. El objetivo de este trabajo fue determinar si los SGs y PBs participan y son modulados durante el proceso de replicación del HBV en hepatocitos humanos.

Materiales y Métodos: Para los experimentos se utilizaron líneas celulares de hepatocitos humanos tumorales control (HepG2) y transfectadas establemente con HBV (HepG2 2.2.15, con replicación viral). La detección y cuantificación de los SGs y PBs en ambas líneas celulares se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta, utilizando anticuerpos primarios monoclonales específicos para SGs (TIA-1/TIAR, TIA-1 y G3BP1) y PBs (DCP1a). Para la observación se utilizó un microscopio confocal de fluorescencia (Nikon C1 siR) y las imágenes obtenidas se analizaron mediante el programa ImageJ.

Resultados: En las células con replicación viral se observó un aumento significativo en el número de células conteniendo SGs y PBs y en la cantidad total de gránulos de ARN, con respecto a las células control. La situación de estrés celular que significa la replicación del HBV se ve reflejada por el incremento de estos gránulos en el citoplasma de los hepatocitos. En particular, de acuerdo a la cuantificación de las intensidades de fluorescencia obtenidas mediante el marcado de las distintas proteínas componentes de los gránulos, los SGs analizados contenían mayor cantidad de G3BP1 y menor cantidad de TIA-1 y TIAR. Estos resultados indicarían que durante la replicación del HBV se recluta una mayor proporción de G3BP1 que de TIA-1 y TIAR para formar los SGs. A su vez, las diferencias en los incrementos de SGs cuantificados mediante la detección simultánea de TIA-1/TIAR o exclusiva de TIA-1, demuestran que ambas proteínas están presentes en la formación de SGs. Por otro lado, también se observó detectando DCP1a un aumento de los PBs en las células con el virus replicando, respecto del control sin replicación. Estos resultados indicarían que este otro tipo de gránulos de ARN también tiene participación durante la replicación viral.

Conclusiones: Los gránulos de ARN (SGs y PBs) participan y son modulados durante la replicación del HBV en hepatocitos humanos. Aún queda por dilucidar cuál es el rol de los mismos y sus distintas proteínas componentes y en qué paso del ciclo viral intervienen específicamente. El incremento de los gránulos de ARN alteraría la funcionalidad normal del hepatocito infectado y contribuiría a la fisiopatología de la hepatitis crónica B.

MI 149

0112 - ROL DEL DOMINIO CÁPSIDE DE LA POLIPROTEÍNA GAG EN EL ENSAMBLADO DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA DE FELINOS (FIV)

OVEJERO, César Antonio | AFFRANCHINO, José Luis | **GONZÁLEZ, Silvia Adriana**

LABORATORIO DE VIROLOGÍA. CONICET. FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES. UNIVERSIDAD DE BELGRANO

Introducción y Objetivos: Los lentivirus se ensamblan en la membrana plasmática de las células infectadas a partir de la multimerización de la poliproteína Gag. Al brotar los viriones al medio extracelular, la proteína Gag de FIV es procesada por la proteasa viral para dar las proteínas del virión maduro: matriz, cápside (CA) y nucleocápside. Hemos demostrado que la CA cumple dos funciones: como dominio de Gag, participa de las interacciones Gag-Gag que conducen al ensamblado viral, mientras que en el virión maduro, la CA forma una estructura cónica que protege al complejo nucleocápside-ARN genómico viral. El estudio de la partícula inmadura de HIV-1 por criotomografía electrónica sugiere que el motivo aminoacídico WM de la hélice 9 de la CA es importante para las interacciones Gag-Gag. La CA de FIV exhibe en posiciones equivalentes los aminoácidos YL mientras que en otro lentivirus, el virus de la anemia infecciosa equina (EIAV), el motivo es FL. Decidimos entonces introducir una serie de sustituciones aminoacídicas en el motivo Y176 L177 de la CA de FIV para luego investigar su efecto sobre el ensamblado *in vivo* e *in vitro* de Gag.

Materiales y Métodos: Utilizando la técnica de mutagénesis dirigida, introdujimos las mutaciones deseadas en el dominio CA de la poliproteína Gag de FIV. Las proteínas Gag salvaje y mutantes se expresaron en células COS-7 y la presencia de Gag, tanto en los lisados celulares como en la fracción particulada purificada a partir de los sobrenadantes de cultivo clarificados, se detectó mediante Western blot utilizando un anticuerpo específico. Para analizar el ensamblado *in vitro* de Gag o la oligomerización de la proteína CA, utilizamos proteínas recombinantes expresadas en *Escherichia coli* las cuales fueron incubadas en las condiciones de pH, concentración salina y temperatura previamente descriptas por nuestro grupo.

Resultados: Los resultados obtenidos se pueden resumir de la siguiente manera. El solo hecho de reemplazar la Y176 o la L177 de la CA de FIV por alanina es suficiente para suprimir tanto el ensamblado de Gag en partículas pseudovirales extracelulares como el ensamblado *in vitro* de Gag. Además, la proteína CA recombinante llevando la mutación Y176A es incapaz de oligomerizar *in vitro*. Por otro lado, mientras la mutación Y176W inhibe en un 80% la formación de partículas, las sustituciones aminoacídicas Y176F, L177M y Y176W/L177M reducen el ensamblado de Gag en un 50% respecto de la producción de partículas extracelulares por la proteína Gag salvaje.

Conclusiones: Nuestros resultados demuestran que en FIV, el motivo YL de la hélice 9 de la CA es esencial tanto para la multimerización de Gag en partículas inmaduras como para la oligomerización de la proteína CA madura. Es interesante destacar que las mutaciones Y176F y Y176W/L177M, que reducen parcialmente el ensamblado de Gag de FIV, convierten al motivo YL original de la CA de FIV en los motivos FL o WM, los cuales se hallan en posiciones equivalentes en las proteínas CA de EIAV y HIV-1, respectivamente.

MI 150

0121 - ESTUDIO SOBRE LAS ESPECIES Y ACTIVIDAD DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS DE SAN LUIS (SLEV) EN MOSQUITOS CAPTURADOS EN RELACIÓN A UN CASO HUMANO CONFIRMADO EN PERGAMINO (BUENOS AIRES), 2019

GOENAGA, Silvina | MARTIN, María Laua | FABBRI, Cintia Marcela | LEVIS, Silvana Del Carmen | MORALES, María Alejandra

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES VIRALES HUMANAS (INEVH) "DR. JULIO I. MAIZTEGUI"

Introducción y Objetivos: El virus de la Encefalitis de San Luis (SLEV) corresponde a un Flavivirus endémico de América. Su ciclo de transmisión involucra aves y mosquitos del género Culex. El hombre es un huésped accidental presentando cuadros asintomáticos o muy leves. Excepcionalmente se pueden presentar cuadros graves con afecciones neurológicas. Durante el trascurso del año 2019 (hasta la SE 18) se han confirmado 5 casos humanos en Buenos Aires, Santa Fe y Santiago del Estero. Uno de los casos de Buenos Aires, residente de la ciudad de Pergamino, inicio los síntomas el 18 de febrero y desarrolló un cuadro neurológico de evolución favorable. El objetivo del siguiente trabajo fue evaluar la infección del SLEV en mosquitos capturados en sitios aledaños a un caso confirmado por SLEV en la ciudad de Pergamino, Buenos Aires.

Materiales y Métodos: Se colocaron un total de 9 trampas CDC adicionadas con hielo seco para la captura de mosquitos adultos en la casa del caso de SLEV confirmado y en casas vecinas desde las 19 hs a las 8 hs del día siguiente. Las mismas se colocaron desde el 16 al 19 de marzo. El sitio de colocación de trampas correspondió a un área urbana. Los ejemplares capturados se identificaron hasta la categoría de especie bajo una platina fría

y se agruparon en pooles en función de la especie, fecha de muestreo y sitio de captura. Cada pool fue macerado con una suspensión de albumina bovina 7.5% y de la misma se realizó la extracción del ARN con trizol (TRI REAGENT TM Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Se efectuó una PCR en tiempo real (qRT-PCR) para Encefalitis de San Luis para la amplificación de la región NS5 del genoma viral.

Resultados: Se capturaron un total de 373 ejemplares de mosquitos (37 pooles). La especie más abundante fue Culex pipiens/quinquefasciatus (169 ejemplares, 45,3%) seguida de Cx. bidens (146 ejemplares, 39,2%), Aedes albifasciatus (32 ejemplares, 8,6%) y Ae. aegypti (20 ejemplares, 5,4%). Se encontraron también 2 ejemplares del género Mansonia sp. (1pool) y 4 ejemplares de Culex sp. (3 pooles) no se lograron identificar a especie. Todos los pooles fueron analizados por qRT-PCR y arrojaron un diagnóstico negativo.

Conclusiones: Si bien los resultados fueron negativos para SLEV por qRT-PCR, destacan el predominio de especies del género Culex y aportan conocimiento acerca de la diversidad de mosquitos en la región y del potencial rol como vectores de arbovirus.

MI 151

0261 - EXPRESIÓN DE INTERFERÓN LAMBDA 3 EN TEJIDO NERVIOSO DURANTE LA LATENCIA Y REACTIVACIÓN DE TERNEROS INFECTADOS CON ALFAHERPESVIRUS BOVINOS TIPOS 1Y 5

MARIN, Maia[1] | **ROSALES, Juan José** [2] | BURUCÚA, Mercedes[1] | PEREZ, Sandra[2]

CONICET [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DE LA PROVINCIA DE BUENOS ARIES [2]

Introducción y Objetivos: Los alfaherpesvirus bovinos (BoHV) tipo 1 y 5 son virus neurotrópicos. El BoHV-5 ocasiona meningoencefalitis en terneros y el BoHV-1 solo ocasionalmente causa encefalitis. El ciclo de infección de los alfaherpesvirus se caracteriza por etapas de infección aguda, latencia y reactivación, siendo el ganglio trigémino (GT) el principal sitio de latencia. La reactivación del virus latente conduce a la transmisión y diseminación del mismo. El interferón (IFN) lambda fue recientemente identificado. Al igual que el IFN tipo I, IFN lambda induce un estado antiviral, aunque no existe información respecto a su rol en la infección por BoHV. Estudios preliminares demostraron niveles elevados de expresión de IFN lambda 3 en corteza cerebral y GT de terneros en la etapa aguda de infección con BoHV-5 y BoHV-1, respectivamente, en concordancia con los sitios de mayor replicación de cada virus. El objetivo de este estudio fue determinar y comparar los niveles de expresión del IFN lambda 3 en sistema nervioso central (SNC) y GT de terneros experimentalmente infectados con BoHV-1 o BoHV-5 durante la latencia y reactivación.

Materiales y Métodos: Para este estudio se inocularon terneros intranasalmente con 10^3 DICC50/ml de la cepa Cooper de BoHV-1 (n=4) o de la cepa 97/613 de BoHV-5 (n=4) para inducir una infección latente, realizándose la eutanasia de 2 terneros de cada grupo durante esta etapa a los 24 días post-infección (dpi). A los animales restantes se les inició un tratamiento con dexametasona (DEX) a los 21 dpi para inducir la reactivación. La eutanasia se realizó a los 25 dpi, 48 horas luego de la última dosis de DEX. Se contó con dos animales controles sin infectar, uno de los cuales también recibió tratamiento con DEX y se realizó la eutanasia a los 24 y 25 dpi, de acuerdo a los grupos infectados. Se obtuvieron muestras de corteza cerebral olfatoria, frontal y posterior, médula oblonga y GT y se analizó la expresión de IFNλ3 mediante RT-qPCR.

Resultados: Esto fue particularmente evidente en GT infectado con BoHV-1 y corteza anterior y médula cervical de animales infectados con BoHV-5. Por el contrario, la reactivación de ambos virus inhibió la expresión de IFN lambda3 ($p \leq 0,05$), excepto en GT donde IFN lambda 3 solo fue detectable en los terneros infectados y no en los terneros control.

Conclusiones: Al igual que en la infección aguda, la expresión de IFN lambda 3 coincide con los sitios preferenciales de replicación de cada virus y es probable que refleje la respuesta innata del hospedador que restringiría la replicación viral inicial hasta el establecimiento de latencia. La reactivación del virus contrarrestaría esta respuesta en SNC, propiciando su excreción y diseminación. La detección de los niveles de expresión de los IFN lambda1 y 2 será necesaria para obtener un análisis global de la respuesta mediada por IFN lambda; en el tejido nervioso bovino.

MI 152

0371 - EFECTO DE LA PATOGENICIDAD VIRAL EN LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS A LA APOPTOSIS

COLINA, Santiago Emanuel | NOGUEIRAS, Juan Pablo | ABEYÁ, María Mercedes | SERENA, María | ECHEVERRÍA, María Gabriela | METZ, Germán Ernesto

LABORATORIO DE VIROLOGÍA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLP

Introducción y Objetivos: La apoptosis celular es un proceso regulado por diversos factores tanto fisiológicos como patológicos, incluyendo la exposición a agentes biológicos como virus. El virus de arteritis equina (VAE) produce la enfermedad del mismo nombre de gran importancia en medicina veterinaria. Diversos estudios han demostrado que la infección por este virus genera una activación del proceso apoptótico sobre las células que infecta; proceso que estaría en relación con los signos clínicos de esta virosis. Este trabajo de investigación tiene como objetivo analizar el efecto de dos cepas del VAE de distinta patogenicidad en la inducción y expresión de genes relacionados con el proceso apoptótico.

Materiales y Métodos: Se emplearon dos cepas del VAE de diferente patogenicidad: la cepa Bucyrus de alta patogenicidad (Bu) y la cepa LP01 de baja patogenicidad. Las infecciones se realizaron empleando células BHK-21 a una multiplicidad de infección de 5, tomando muestras a las 24 y 48 horas postinfección (hpi). En primera instancia, se analizaron cambios morfológicos asociados a la apoptosis mediante tinción con Naranja de Acridina (NA) y Bromuro de Etidio (BE), empleándose controles negativos (cultivos sin infectar) y positivos (cultivos con Staurosporina 1µg/ml). Luego se procedió a la cuantificación de la apoptosis mediante citometría de flujo y qPCR para cuantificar la expresión del gen de la caspasa 3 empleando el método de delta CT normalizado con el gen β-actina.

Resultados: Mediante la tinción con NA/BE se pudieron observar los cuerpos apoptóticos característicos de este tipo de muerte celular en los cultivos infectados a las 48 hpi con ambas cepas, evidenciándose mayor efecto con la cepa patogénica. Los valores de citometría de flujo mostraron diferencias entre ambos cultivos infectados: cepa patogénica: 24hpi 12,7% y 48hpi 15,4%; cepa no patogénica: 24hpi 7,8% y 48 hpi 8,7%. Respecto a la cuantificación del gen de la caspasa 3, los datos preliminares mostraron un aumento en la expresión de este gen en ambos cultivos a las 24hpi respecto al control de β-actina. Sin embargo, con el método del doble delta CT, se observó un aumento 20 veces mayor con la cepa no patogénica, mientras que para la cepa patogénica dicho incremento fue cercano a 2.

Conclusiones: En base a los cambios morfológicos observados en las tinciones con NA/BE y los análisis mediante citometría de flujo se observó un aumento en la inducción de la apoptosis con ambas cepas, evidenciándose mayor magnitud en los cultivos infectados con la cepa patogénica. Por otro lado, mediante la técnica de qPCR, se evidenció un aumento de la expresión del gen de la caspasa 3 en ambos cultivos. Sin embargo, este incremento fue mayor en la cepa no patogénica a diferencia de los resultados obtenidos en los experimentos antes mencionados. Si bien este trabajo se centró en el análisis de la caspasa 3, existen otros efectores involucrados en el proceso de muerte celular por lo que restaría investigar el efecto de los mismos a fin de encontrar una correlación más clara entre la infección viral y su patogenicidad.

MI 153

0492 - IMPACTO DE LA MODULACIÓN FARMACOLÓGICA DEL RECEPTOR DE HIDROCARBURO DE ARILO EN LA REPLICACIÓN DE LOS FLAVIVIRUS

TORTI, María Florencia [1] | GIOVANNONI, Federico[1] | DAMONTE, Elsa[1] | QUINTANA, Francisco[2] | GARCIA, Cybele[1]

IQUIBICEN [1]; ANN ROMNEY CENTER FOR NEUROLOGIC DISEASES, BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, HARVARD MEDICAL SCHOOL [2]

Introducción y Objetivos: El virus dengue (DENV) pertenece a la familia *Flaviviridae* y presenta cuatro serotipos capaces de causar enfermedad en seres humanos al ser transmitidos por la picadura de mosquitos infectados del género *Aedes*. La infección por DENV causa un amplio espectro de cuadros clínicos que varían desde infecciones asintomáticas hasta cuadros de dengue severo que presentan alta tasa de mortalidad. Actualmente no existen tratamientos específicos para combatirlo, por tanto es crucial el desarrollo de nuevas estrategias antivirales contra esta infección. El Receptor de Hidrocarburo de Arilo (AHR) es un factor de transcripción activado por ligando que se encuentra en el citoplasma celular. AHR clásicamente ha sido asociado a la depuración de xenobióticos, sin embargo, en las últimas décadas se ha encontrado que puede ser activado por compuestos que pueden provenir no sólo de la polución, sino también de la dieta, el microbioma o incluso nuestro propio metabolismo. Resultados previos de nuestro laboratorio indican que la vía de señalización de AHR se encuentra activada durante la infección por el virus Zika(ZIKV), otro miembro de la familia *Flaviviridae*. Mediante secuenciación masiva de ARN (RNASeq) se puso en evidencia que células infectadas con ZIKV presentan sobre-expresada la vía de señalización de AHR respecto de células control y por otro lado, se observó que el bloqueo de AHR inhibe la replicación de ZIKV *in vitro*. En el presente trabajo nos propusimos evaluar el impacto de la modulación farmacológica de AHR en la replicación de DENV *in vitro*.

Materiales y Métodos: Se emplearon ligandos agonistas y antagonistas de AHR para tratar cultivos celulares de células A549 previo a la infección con DENV 1-4. A partir de los sobrenadantes del cultivo, se determinó el rendimiento viral mediante titulación por formación de placas de lisis bajo metilcelulosa. Por otro lado, a partir de las monocapas de células infectadas, se llevaron a cabo ensayos de inmunofluorescencia indirecta y de RT-PCR en tiempo real para cuantificar la expresión de proteína y genoma viral, respectivamente.

Resultados: El tratamiento con 20µM del antagonista de AHR CH223191, no sólo provocó una disminución del rendimiento viral en un 95±4% sino, además redujo la expresión de proteína viral en un 84,5±0,5%.

Conclusiones: Los resultados obtenidos sugieren que la vía de señalización de AHR está involucrada en los procesos de replicación de DENV y ZIKV *in vitro* y por tanto la misma representaría un potencial blanco terapéutico frente a la infección por flavivirus.

MI 154

0568 - LA CITOQUINA MIF MODULA LA RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA DE LINFOCITOS T-CD4+ PRIMARIOS INCREMENTANDO LA RESPUESTA TH17 EN EL CONTEXTO DE LA INFECCIÓN POR VIH-1

TRIFONE, César Arielk | SALIDO, Jimena | CZERNIKIER, Alejandro | SALOMÓN, Horacio | QUIROGA, Florencia | GHIGLIONE, Yanina | TURK, Gabriela

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS EN RETROVIRUS Y SIDA (INBIRS)

Introducción y Objetivos: Los niveles plasmáticos de MIF (factor inhibidor de la migración del macrófago) están aumentados en sujetos infectados con VIH (virus de la inmunodeficiencia humana). En macrófagos derivados de monocitos primarios (MDM) infectados in vitro por VIH-1, MIF gatilla la sobreexpresión de citoquinas proinflamatorias, lo que potencia la producción viral a partir de linfocitos T-CD4+ (LTCD4) primarios no activados. Sin embargo, se desconoce si MIF ejerce un efecto directo sobre los LTCD4 en el contexto de la infección. Objetivo: evaluar el papel de MIF en la biología de los LTCD4 durante la infección por VIH.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron MDMs y LTCD4 de donantes sanos mediante separación por ficoll/percoll y selección negativa, respectivamente. Los MDMs se infectaron con cepas de VIH-1 con tropismo R5. Once días post-infección, se realizaron cocultivos alogénicos MDM-LTCD4 adicionando 25 ng/ml de MIF, por 5 días. LTCD4 fueron estimulados con PHA o beads anti-CD3/CD28 in vitro en presencia de MIF o medios condicionados derivados de MDMs estimulados con MIF. La expresión de citoquinas y de marcadores de activación se evaluó mediante citometría de flujo. La producción de citoquinas solubles fue evaluada por ELISA. Los datos fueron analizados por métodos paramétricos.

Resultados: Luego de 5 días de estímulo, en los MDMs sin cocultivar estimulados con MIF no se observaron diferencias en los marcadores de membrana CD80, CD86 y HLA-DR. Contrariamente, se observó una mayor producción de citoquinas tales como IL-1β ($p=0,0052$) e IL-6 ($p<0,0001$) mientras que se observó una disminución de la expresión de IL-10 ($p<0,0001$). Luego de 5 días de cocultivo, los LTCD4 mostraron un aumento del 41% en la proporción de células CD3+CD4+IL-17+ ($p=0,032$) y una mayor concentración de IL-17 en los sobrenadantes de cultivo ($p=0,033$), pero no de IFN-γ o IL-2. Se obtuvo un aumento, no significativo, del porcentaje de células CD3+CD4+RoRγt+ (69,5%), pero sin alteración de la contraparte Tbet+. Los niveles de activación celular de los LTCD4, evaluados a través de la expresión en membrana de CD38 y HLA-DR, resultaron similares en todas las condiciones. LTCD4 activados con PHA en presencia de MIF o con los sobrenadantes de los MDMs sin cocultivar no reproducen los resultados obtenidos. En conjunto nuestros resultados indicarían un rol de MIF en la polarización de LTCD4 hacia un perfil Th17, también gatillando la expresión de mediadores inflamatorios por parte de MDMs infectados.

Conclusiones: El estímulo de MIF sobre MDMs infectados con VIH-1 desencadenó la expresión de citoquinas, tales como IL-1β e IL-6, sin alterar la expresión de marcadores de membrana como ser CD86, CD80 y HLA-DR. La activación de LTCD4, en este microambiente inflamatorio, favoreció el desarrollo de un perfil CD3+CD4+IL-17+. En general, MIF contribuiría a la patogénesis viral al generar un entorno inmune enriquecido en mediadores activadores y un aumento de la población Th17 de los LTCD4 que, se informa, son altamente susceptibles a la infección por VIH-1.

CAM - Virología clínica

MI 155

0047 - INFECCIONES POR TOXOPLASMOSIS Y *CITOMEGALOVIRUS* EN RECIEN NACIDOS CON MICROCEFALIA EN ARGENTINA, 2016-2018. ESTUDIO MULTICÉNTRICO.

GONZALEZ, Cecilia Alejandra [1] | LEDESMA, B.A.[2] | CAMPOS, P.K.[2] | NIGRO, M.[2] | SCHUCHINSKY, A.G.[1] | MORALES, M.A.[3] | GROISMAN, B.[4] | ALONSO, A.M.[1]

SERVICIO: VIROSIS CONGÉNITAS, PERINATALES Y DE TS. DPTO VIROLOGÍA. INEI-ANLIS "DR. CARLOS MALBRÁN" [1]; LABORATORIO DE TOXOPLASMOSIS. DPTO PARASITOLOGÍA. INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [2]; INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES VIRALES HUMANAS "DR. JULIO MAIZTEGUI" , ANLIS [3]; CENTRO NACIONAL DE GENÉTICA MÉDICA. ANLIS [4]

Introducción y Objetivos: En el marco de la vigilancia de los casos de microcefalia y/u otras anomalías congénitas se estudiaron las infecciones por *Toxoplasma gondii* (Tg) y *Citomegalovirus* (CMV) en recién nacidos (RN). La infección aguda por Tg en la embarazada cursa en forma asintomática en un 80-90% de los casos. La tasa de transmisión aumenta con la edad gestacional. Siendo de un 5-10% en el primer trimestre con alta morbimortalidad del embrión y en el último trimestre de un 60%. La infección por CMV afecta a un 0,2-2,5% de los RN. La primoinfección en embarazadas es del 1-4%. En el 40 % de estos casos la infección se transmite al feto, de los cuales el 10% manifestará síntomas al nacer, el 4% fallecerá y el 50 % presentará secuelas permanentes. En mujeres previamente inmunes 1-2% de los fetos podría ser infectado. En las embarazadas la infección primaria por Tg y CMV, así como las reactivaciones por CMV, pueden causar una infección fetal que puede manifestarse como: microcefalia, restricción del crecimiento intrauterino, hidrops, sepsis neonatal, hidrocefalia, calcificaciones cerebrales, coriorretinitis y muerte fetal. Solo un 10-20% de los neonatos infectados presentan síntomas al nacer, resultando el 90 % restante asintomático pudiendo desarrollar secuelas tardías. Objetivo: Detectar casos de Tg y CMV en RN que presenten al nacimiento microcefalia derivadas del Registro Nacional de Anomalías Congénitas, de abril de 2016 a febrero de 2018.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 222 casos con microcefalia de los cuales 127 se analizaron para Tg y CMV. Las muestras recibidas fueron suero, sangre entera y orinas del RN y la madre. Las técnicas utilizadas fueron serología para IgG/IgM por ELISA e ISAGA y la detección del genoma por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Resultados: Se estudiaron 127 casos, se detectaron 16/127 (12,6%) Tg, de los cuales 12 casos fueron confirmados por serología y 4 por PCR. En el caso de CMV se detectaron 14/127 (11%), uno confirmado por serología y 13 por PCR. Se halló 1 caso de coinfección, que además, presentó hidrocefalia, lesiones oculares, calcificaciones cerebrales, entre otros.

Conclusiones: En este estudio se encontró que Tg fue el patógeno detectado con mayor frecuencia 12,6% y CMV en un 11%. Como el 90% de los RN que adquieren la infección congénita por Tg y CMV pueden no manifestar signos clínicos al nacer, pero que podrían presentar secuelas tardías, se remarca la importancia de la búsqueda de estos patógenos para dar un tratamiento oportuno. Dentro de las infecciones más frecuentes en la embarazada se encuentran Toxoplasmosis y CMV, que en general son asintomáticas, por lo que es necesario conocer el status serológico en mujeres en edad fértil y realizar el control serológico en embarazadas.

MI 156

0056 - FRECUENCIA DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO ALTO RIESGO EN MUJERES DE ZONAS RIBEREÑAS INUNDABLES DE ASUNCIÓN; PARAGUAY, 2014-2016

VILLAGRA, Veronica [1] | MALDONADO, Nelly[2] | BOBADILLA, Maria Liz[1] | ZORRILLA, Maria Elena[1] | OLMEDO, Gladys[1]

LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PUBLICA [1]; MINISTERIO DE SALUD PUBLICA Y BIENESTAR SOCIAL [2]

Introducción y Objetivos: El cáncer de cuello uterino (CCU) es el cuarto tipo de cáncer más común que afecta a mujeres en el mundo y la primera causa de muerte por cáncer en mujeres en países en vías de desarrollo. En Paraguay la incidencia es superior a las observadas en otros países de la región, siendo las tasas de incidencia y mortalidad de 31,5 por 100.000 mujeres y de 16,0 por 100.000 por 100.000 mujeres, respectivamente. Las lesiones intraepiteliales escamosas constituyen las precursoras del CCU, por lo que su diagnóstico precoz es importante en la terapéutica y pronóstico de las pacientes. Durante años, el método primario de detección del CCU ha sido la citología cervical o Pap; actualmente, la detección de VPH representa un valioso componente de las guías clínicas para tamizaje, manejo y tratamiento del CCU y sus lesiones precursoras. En este contexto, desde el 2013, el Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPyBS) ha implementado la detección molecular de VPH-AR para su uso en el cribado de mujeres a partir de los 30 años y ha sido que ha sido introducida en centros asistenciales de la capital y del interior del país. Este es un estudio observacional descriptivo de corte transverso para determinar la frecuencia de VPH-AR en las mujeres reclutadas de los Bañados Norte y Sur de Asunción; Paraguay, desde enero de 2014 hasta junio de 2016 y correlacionar los resultados encontrados con las características socio-demográficas de esta población.

Materiales y Métodos: Se incluyeron 963 muestras cervicales de mujeres que consultaron en Servicios de Salud dependientes del MSPyBS situados en los Bañados Norte y Sur de Asunción. Aquellas pacientes que cumplían con criterios de selección preestablecidos, fueron invitadas a realizarse la prueba de VPH. Las participantes firmaron un consentimiento informado y respondieron un cuestionario sobre características clínico-demográficas y los factores de riesgo asociados al CCU. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación (CEI) del LCSP. Los especímenes clínicos consistieron en células exfoliadas recolectadas usando un cepillo citológico para endocérvix. La detección de VPH se realizó mediante el sistema Cobas 4800 HPV Test (Roche Diagnostics, Alemania).

Resultados: La población estudiada incluyó a 963 mujeres de 13 a 75 años siendo la edad promedio de 40 ±10 años. Todas las muestras incluidas en este trabajo fueron positivas para el gen de β-globina humana, lo que demostró la buena calidad del material genético de las mismas en el momento de someterlas a esta

prueba. La frecuencia de VPH-AR fue del 14,3%. Se observó que el pool de Otros VPH-AR no VPH-16 y no VPH-18 fue más frecuentemente detectado, constituyendo el 75,4% de las muestras positivas.

Conclusiones: La mayor frecuencia observada de Otros VPH-AR, en comparación con los VPH-16 y VPH-18 en esta población carenciada de las regiones inundables de Asunción, sugiere que la vacuna nonavalente, que incluya HPV-6,11,16,18,31,33,45,52 y 58, podría ser más efectiva en la prevención de lesiones precursoras del CCU.

MI 157

0075 - DESARROLLO DE UN PROTOTIPO DE METODOLOGÍA DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO CON MEMBRANAS *TRACK-ETCHED* DE PET, UTILIZANDO COMO MODELO LA DETECCIÓN DE ROTAVIRUS DEL GRUPO A (RVA) EN MUESTRAS CLÍNICAS

PERI IBÁÑEZ, Estefanía Soledad [1] | MANDILE, Marcelo[1] | AGUIAR, Constanza[2] | FLORES, Constanza[3] | SILVESTRE, Dalila[1] | ARGÜELLES, Marcelo[4] | TEMPRANA, Carlos Facundo[1] | MARIANO, Grasselli[2] | GLIKMANN, Graciela[5] | CASTELLO, Alejandro[4]

LAB. DE INMUNOLOGÍA Y VIROLOGÍA, DPTO. DE CYT, UNQ / CONICET [1]; LAB. DE MATERIALES BIOTECNOLÓGICOS, DPTO. DE CYT, UNQ / CONICET [2]; LAB. DE MATERIALES BIOTECNOLÓGICOS, DPTO. DE CYT, UNQ / INST. DE CS. DE LA SALUD, UNAJ / CONICET [3]; LAB. DE INMUNOLOGÍA Y VIROLOGÍA, DPTO. DE CYT, UNQ / INST. DE CS. DE LA SALUD, UNAJ [4]; LAB. DE INMUNOLOGÍA Y VIROLOGÍA, DPTO. DE CYT, UNQ [5]

Introducción y Objetivos: Los rotavirus del grupo A (RVA) son una causa importante de morbi-mortalidad en niños pequeños en todo el mundo. Si bien, las vacunas licenciadas han demostrado ser efectivas en países de medio a alto nivel socioeconómico, en regiones de bajos ingresos y pobres condiciones socio-sanitarias muestran un menor rendimiento. Por ello, es importante el establecer estrategias para evaluar el impacto de la vacunación en zonas de bajo nivel socioeconómico y con déficits en higiene y sanitación del Gran Buenos Aires y otras regiones del país. El presente trabajo está encuadrado en una línea general de I+D que se orienta hacia el desarrollo de distintas opciones de metodología de detección rápida, en particular para el diagnóstico de RVA, factible de utilizarse en cualquier servicio básico de salud por personal sin entrenamiento. Si bien, existen pruebas de este tipo disponibles comercialmente, la mayoría deben ser importadas, limitando su acceso para el sistema público de salud. Por esta razón, se apunta, además, a la utilización de insumos de bajo costo, en lo posible fabricados en el país, para maximizar las posibilidades de vinculación y transferencia al sector productivo, lo que podría constituir el primer paso de una sustitución de importaciones.

Materiales y Métodos: En el trabajo aquí presentado, se desarrolló un prototipo de metodología de inmunofiltración (IF) basado en el uso de membranas *track-etched* de PET (tereftalato de polietileno) (TEMs), un material nanoestructurado disponible comercialmente, que cuenta con la ventaja de que su estructura puede ser modificada con una alta precisión para obtener poros perfectos a través del material, con el tamaño, la forma y la densidad que se desee. Se evaluaron distintas condiciones de reacción y reactantes, modificando buffers, aditivos y preparaciones de anticuerpos, y utilizando nanopartículas de oro como partículas detectoras. Para testear el prototipo, se utilizó un número de muestras clínicas positivas y negativas para RVA de la colección del LIV. Además, se llevó a cabo una comparación preliminar de performance y sensibilidad contra la inmunocromatografía de flujo lateral (ICFL) y ELISA desarrollados en el LIV, ambos métodos con una sensibilidad igual a superior a sus equivalentes comerciales.

Resultados: Se lograron determinar las condiciones óptimas de reacción y se pusieron a punto las concentraciones ideales de reactivos y anticuerpos. Se obtuvieron resultados satisfactorios en cuanto a sensibilidad y especificidad, comparables a los de la ICFL, para la detección de la mayoría de las muestras evaluadas.

Conclusiones: A pesar de los resultados favorables, es preciso seguir trabajando en el formato del ensayo, para poder llevar a cabo su validación con un número mayor de muestras clínicas. Como tareas de continuación de este desarrollo, se evaluará el uso de nanopartículas de oro de mayor tamaño y membranas modificadas con grupos reactivos con el fin de mejorar el prototipo de ensayo, aumentar la sensibilidad en general del método, y poder aplicarlo a la detección de otros patógenos.

MI 158

0137 - ANALISIS DE COINFECCION POR EL VIRUS PAPILOMA HUMANO EN UN HOSPITAL PRIVADO DE BUENOS AIRES

OTAROLA, Eliana Marisel | **GIRARDI, Natalia Soledad** | ROLAN, Martín Andrés | WITIS, María Evangelina | TAKEMOTO, María Ester | GARBARELLO, María Florencia | OYHAMBURU, José María | MEDINA, Marina Soledad

HOSPITAL PRIVADO DE BUENOS AIRES

Introducción y Objetivos: El virus Papiloma humano (VPH) puede presentar distintos genotipos que han sido descriptos en múltiples trabajos, pero no todas las investigaciones incluyen métodos para genotipificarlos a todos y permitir así detectarlos en coinfección. Se han descripto más de 100 tipos de VPH y aproximadamente cuarenta infectan las mucosas, de allí la relevancia de nuestra investigación la cual detectó el genotipo de 36 tipos de VPH. Objetivos: Estudiar y analizar la presencia de coinfección y la distribución de los genotipos de VPH en hombres y mujeres de un hospital privado de la ciudad de Buenos Aires.

Materiales y Métodos: Se analizaron de forma retrospectiva los resultados de VPH positivo de muestras correspondientes a pacientes que asistieron a nuestro Hospital con pedido de genotipificación de VPH entre 2016 y 2019. Las muestras ingresadas al laboratorio fueron citologías en medio líquido (Citobrush) y biopsias de tejido, tanto de hombres como de mujeres. Se obtuvo un total de 1175 datos, 913 correspondientes a mujeres (77.70%), 218 a hombres (18.55%) y 44 a sexo indeterminado (3.74%), los cuales fueron analizados mediante las herramientas informáticas Infostat y Excel. Mediante X^2 se analizó asociación entre sexo y presencia de coinfección, se consideró significativa una $P<0,01$. La detección de VPH fue realizada utilizando el kit comercial HPV Direct Flow CHIP para screening y genotipado de 36 tipos de VPH de alto riesgo (AR) (16,18,26,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68,73 y 82) y de bajo riesgo (BR) (6,11,40,42,43,44,54,55,61,62,67,69,70,71,72,81,84 y 89) mediante amplificación e hibridación específica. No se incluyeron en el análisis los resultados "No genotipificables".

Resultados: Se observó que los subtipos de VPH predominantes en mujeres fueron 16 (14 %), 62 (7.9 %) y 42 (7.7 %) y en hombres los genotipos 6 (29.6 %), 16 (15.1 %) y 11 (12.7 %). Se detectó la infección con más de un genotipo en 466 casos (39.66%), mientras que en el resto de las muestras se observó sólo un genotipo. De los pacientes con coinfección el 81.55% fueron mujeres y el 15.02% hombres (p=0.009). En el análisis de las coinfecciones se observó que el porcentaje de combinaciones de genotipos de AR-BR (68%) fue mayor que el de las combinaciones de genotipos BR-BR (13.1%) y AR-AR (18.9%). Se encontraron casos de coinfección con hasta 6 subtipos en 11 casos (2.36%), aunque lo más frecuente fue la presencia de sólo 2 genotipos en 271 casos (58.15%) siendo las duplas de aparición más frecuentes las 16-62/81, 16-42 y 53-62/81.

Conclusiones: En base a nuestros resultados se concluye que la variabilidad de genotipos en mujeres es mayor que en hombres tanto en coinfección como en mono infección, y que existe una asociación estadísticamente significativa entre coinfección y sexo. En cuanto a la combinación predominante se destacó la de genotipos de AR-BR y a pesar de encontrarse hasta 6 subtipos en una coinfección, lo más frecuente fueron las coinfecciones dobles.

MI 159

0141 - IDENTIFICACIÓN DE VIRUS DE LA FAMILIA *PICORNAVIRIDAE* ASOCIADOS A INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS BAJAS EN NIÑOS

SANCHEZ, Pablo Omar [1] | ROJO, Gabriel[2] | GRANDIS, Erica[1] | ZACARÍAS, Karina[1] | VALINOTTO, Laura[2]

LABORATORIO DE VIROLOGÍA, HOSPITAL DE NIÑOS R GUTIÉRREZ [1]; LABORATORIO DE VIROLOGÍA, HTAL DE NIÑOS R GUTIÉRREZ - CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Rinovirus (RV) y enterovirus respiratorios (EV) son los virus más frecuentemente identificados en las infecciones respiratorias agudas en todas las edades. Ambos se clasifican dentro del género *Enterovirus*, familia *Picornaviridae* y han sido taxonómicamente agrupados en 7 especies, RV A, B, C y EV A, B, C, D. Aunque estos virus están estrechamente relacionados a nivel genético, su diversidad, debido a mutaciones y recombinaciones, ha llevado al reconocimiento de una enorme cantidad de tipos diferentes y presentaciones clínicas variables. En las infecciones respiratorias agudas bajas se asocian a síndromes broncoobstructivos y crisis asmáticas, causando ocasionalmente cuadros severos y de evolución prolongada, principalmente en inmunocomprometidos, donde pueden detectarse por largos períodos de tiempo. En los últimos años se han realizado numerosos trabajos a fin de evaluar su impacto en las infecciones respiratorias agudas, resultando ser los virus más frecuentemente identificados. La aplicación de herramientas de genotipificación permite la identificación de las especies y serotipos y ha adquirido importancia para el conocimiento de la asociación entre éstos y la clínica, la epidemiología y la severidad de la enfermedad. El objetivo del presente trabajo es el de caracterizar las especies de rinovirus y enterovirus respiratorios en pacientes pediátricos con infección respiratoria aguda baja internados en hospitales públicos en la ciudad de Buenos Aires mediante secuenciación de las proteínas estructurales VP1 y VP4/VP2.

Materiales y Métodos: Entre enero y diciembre de 2017 se analizaron 3.699 aspirados nasofaríngeos de niños hospitalizados por infección respiratoria aguda baja internados en hospitales públicos en la ciudad de Buenos Aires. Las muestras fueron procesadas por inmunofluorescencia indirecta para la detección de adenovirus, virus sincicial respiratorio, Influenza A y B y Parainfluenza 1-2-3 y por PCR en tiempo real para la detección de RV/EV. La genotipificación de RV/EV se realizó por secuenciación de los genes de las proteínas de la cápside VP1, VP2/VP4, de acuerdo a protocolos publicados. Los segmentos amplificados fueron secuenciados con método de Sanger y los datos obtenidos analizadosen árboles filogenéticos construidos con secuencias de referencia.

Resultados: De las 3.699 muestras procesadas, se detectó RV/EV en 357 y se tipificaron por secuenciación 126. Se detectaron 48 genotipos diferentes pertenecientes a las especies RV-A, RV-B o RV-C (55,08%, 9,32% y 34,74% de las muestras respectivamente), distribuidos en forma heterogénea durante el período de estudio. La especie EV se identificó solo en 1 muestra, y fue un EV-B. La amplificación de la región VP2/VP4 se obtuvo en 112/126 muestras y la VP1 en 24/126 muestras.

Conclusiones: Los datos obtenidos muestran la elevada preponderancia de la especie rinovirus por sobre los enterovirus respiratorios durante el periodo de estudio.

MI 160

0234 - DETECCIÓN Y GENOTIPIFICACIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN HOMBRES QUE TIENEN SEXO CON HOMBRES EN URUGUAY

D´ALBORA, Cecilia [1] | FRANTCHEZ, Victoria[2] | BASILETTI, Jorge[3] | ARBIZA, Juan[4] | PICCONI, María Alejandra[3] | RUCHANSKY, Dora[1]

DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA Y VIROLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA. UDELAR [1]; CÁTEDRA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS. HOSPITAL DE CLÍNICAS, FACULTAD DE MEDICINA, UDELAR. [2]; SERVICIO VIRUS ONCOGÉNICOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS MALBRÁN [3]; SECCIÓN VIROLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. UDELAR. [4]

Introducción y Objetivos: El Virus Papiloma Humano (HPV) representa la infección de transmisión sexual con mayor prevalencia a nivel mundial e involucraa más de 40 genotipos. Se clasifican en dos grupos de acuerdo a su capacidad oncogénica: de bajo riesgo oncogénico (HPV-BR), en el que los genotipos 6 y 11 se presentan más frecuentemente, implicados en verrugas genitales, y de alto riesgo oncogénico (HPV-AR) donde los genotipos 16 y 18 son los predominantes. Los HPV- AR se asocian a lesiones intraepitelilales de alto grado, precursoras de carcinoma escamoso, más frecuentemente, en cuello uterino y ano (CA). Los hombres que tienen sexo con hombres (HSH), especialmente los infectados por VIH, tienen un riesgo mayor de HSIL, infección anal por HPV, presencia de múltiples genotipos y CA. Hasta el momento en Uruguay no hay datos de prevalencia y de los genotipos de HPV circulantes en el canal anal de HSH. El objetivo fue determinar los genotipos de HPV presentes en el canal anal de HSH VIH positivos y VIH negativos de Uruguay.

Materiales y Métodos: Fueron incluidos en el estudio 61 HSH con edades entre 17 y 70 años, no vacunados contra HPV; 48 de ellos eran HIV positivos y 13 HIV negativos. La detección y genotipificación viral se realizó en las muestras de cepillado obtenidas del canal anal por PCR genérica con posterior hibridación reversa que permite identificar 36 tipos de HPV en infecciones simples y mixtas.

Resultados: Dos o más coinfecciones por HPV fueron encontrados en el 77,0% de los HSH analizados (81.3% en los HIV positivos y 61,5% en los HIV negativos). En VIH positivos se encontraron hasta 9 genotipos diferentes de HPV en una misma muestra, mientras que en HIV negativos el máximo fue de 5 genotipos. Los HPV-AR fueron encontrados en el 81,0% de los HSH HIV positivos y en el 62% de los HIV negativos. El HPV 16 fue detectado en mayoría de los casos (31,0%).

Conclusiones: Este es el primer análisis de circulación de genotipos de HPV en el canal anal de HSH de Uruguay. Se confirma la alta prevalencia de las coinfecciones con múltiples genotipos VPH en esta población, sobre todo en los VIH positivos. El predominio de los HPV-AR (en especial HPV16) y la alta frecuencia de infecciones con múltiples HPV-AR, mayoritariamente en los VIH positivos, expondría a esta población a un riesgo aumentado de desarrollo de preneoplasia y cáncer anal.

MI 161

0291 - LA EXPRESIÓN DE CD32 (RECEPTOR PARA EL FRAGMENTO FC DE IGG) PROMUEVE LA ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS T CD4+ Y CD8+ DE NIÑOS CON INFECCIÓN SEVERA POR VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO

SANANEZ, Inés [1] | RAIDEN, Silvina[2] | HOLGADO, Pía[1] | SEERY, Vanesa[1] | DE LILLO, Leonardo[2] | GEFFNER, Jorge[1] | ARRUVITO, Lourdes[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS EN RETROVIRUS Y SIDA (INBIRS) [1]; HOSPITAL GENERAL DE NIÑOS PEDRO DE ELIZALDE [2]

Introducción y Objetivos: La infección por el virus sincicial respiratorio (VSR) es la principal causa de hospitalización en niños menores de 12 meses de edad. Los anticuerpos IgG pueden modular la respuesta inmune a través de los receptores de la porción Fc de IgG (FcgR). Previamente reportamos que las células T CD4 + de adultos sanos expresan FcgR tipo II (CD32). La expresión y función de CD32 en las células T de niños con VSR aún no ha sido analizado. Nuestro objetivo principal es determinar si los anticuerpos contra el VSR, a través de su unión al receptor CD32, promueven la infección de las propias células T por el virus o afectan la

función de las mismas células T de una manera que podría potenciar la enfermedad por VSR en infantes con infecciones por este virus.

Materiales y Métodos: Se trabajó con células mononucleares (PBMCs) aisladas de muestras de sangre periférica de niños con VSR (n=98) hospitalizados por bronquiolitis severa, y niños controles (n=46), apareados en sexo y edad, admitidos para cirugía programada. Evaluamos: 1. La expresión e isoformas (activadora e inhibidora) del CD32 en las células T de los pacientes por citometría de flujo y por RT-qPCR respectivamente. 2. La capacidad de unir complejos inmunes usando IgG humana agregada por calor en ausencia y presencia de un anticuerpo bloqueante por citometría de flujo. 3. La co-expresión de marcadores de activación (CD25, HLA-DR) por citometría de flujo. 4. La respuesta de las células CD4+ al estímulo específico de CD32 mediante el análisis de los niveles de citocinas secretadas por ensayos multiplex (LEGENDplex). 5. El porcentaje de infección por VSR de células T de los pacientes en ausencia o presencia de una dosis subóptima de anticuerpo neutralizante por citometría de flujo.

Resultados: Se observó una mayor frecuencia de células T CD32+ CD4+ y CD8+ en niños VSR+ (n = 49) en comparación con los niños controles (n = 29, ****), con predominio de la isoforma activadora. Interesantemente, la expresión de CD32 en células T CD4+ y CD8+ de niños VSR+ está asociada con marcadores de activación como CD25 y HLA-DR (**). En concordancia, las células T CD4+ y CD8+ de niños VSR+ unieron IgG agregada (n=13, ***), la cual se redujo ante la adición de anti-CD32. Desde el punto de vista funcional, el estímulo a través de CD32, promovió la secreción de un diverso patrón de citocinas por las células T CD4+ de niños VSR+, IL2 (****), IFN-g (*) TNF-a (*), IL-4 (**), IL-6 (**), IL-10 (*) e IL8 (*). Finalmente, el VSR acomplejado con anticuerpos específicos no potencia la infección de las propias células T CD4+ y CD8+.

Conclusiones: Nuestras observaciones indican que la infección por VSR induce un aumento en la frecuencia de células T CD4+CD32+ y CD8+CD32+. Asimismo, este receptor ejerce una acción estimulatoria sobre las células T CD4+ y CD8+ al potenciar su activación sin promover la infección en presencia del virus acomplejado. La caracterización de este mecanismo podrá mejorar las estrategias terapéuticas disponibles o promover otras.

MI 162

0300 - ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN VIRUS-HOSPEDADOR A NIVEL HEPÁTICO EN LA PATOGENIA DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR HBV

GIADANS, Cecilia Graciela [1] | RIOS, Daniela Alejandra[1] | AMEIGEIRAS, Beatriz[2] | ALONSO, Ines[2] | PIETRANTONIO, Adriana Mónica[3] | LUCATELLI, Néstor Lucio[3] | HADDAD, Leila[4] | MULLEN, Eduardo[5] | DE MATTEO, Elena Noemí[1] | FLICHMAN, Diego[6] | VALVA, Pamela[1] | PRECIADO, Maria Victoria[1]

INSTITUTO MULTIDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIONES EN PATOLOGÍAS PEDIÁTRICAS (IMIPP-CONICET-GCBA) [1]; SECCIÓN HEPATOLOGÍA, HOSPITAL RAMOS MEJÍA [2]; DIVISIÓN PATOLOGÍA, HOSPITAL RAMOS MEJÍA [3]; SERVICIO DE HEPATOLOGÍA, HOSPITAL ITALIANO DE BUENOS AIRES [4]; DIVISIÓN PATOLOGÍA, HOSPITAL ITALIANO DE BUENOS AIRES [5]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS EN RETROVIRUS Y SIDA (INBIRS) [6]

Introducción y Objetivos: En la patogenia de la infección crónica por el virus de hepatitis B (HBV) el sistema inmunitario no logra establecer una respuesta efectiva lo cual resulta en la persistencia viral. A su vez, el virus, a través de la expresión temporal de diversas proteínas promueve un estatus inmunotoletrante. Sin embargo, ha sido poco explorado el papel del microambiente hepático y su relación con los antígenos virales en el contexto de la injuria hepática. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la interacción entre la respuesta inmune intrahepática y la actividad viral en relación al daño hepático observado.

Materiales y Métodos: En biopsias hepáticas fijadas en formol e incluidas en parafina de 30 adultos con hepatitis B crónica, libres de tratamiento, 40% HBeAg+, se evaluó por inmunohistoquímica: 1) la frecuencia en el infiltrado hepático de LTh (CD4+), LTh1 (Tbet+), LTh17 (IL-17A+), LTreg (FoxP3+) y LTc (CD8+) a nivel portal/periportal (P/P) y lobulillar [Recuento: linfocitos+/linfocitos totales a nivel P/P y linfocitos lobulillares+/campo, respectivamente (400X)], 2) la expresión del marcador de agotamiento PD-1 en las células del infiltrado y 3) la expresión hepática de los antígenos de superficie (HBsAg) y core (HBcAg). Se determinó la actividad histológica y el estadio de fibrosis mediante el KNODELL modificado y METAVIR.

Resultados: Se identificaron a nivel P/P todas las poblaciones linfocitarias, con predominio de los LTh; mientras que a nivel lobulillar se observaron solo LTc y LTreg. Respecto a los parámetros de daño hepático, se observó mayor frecuencia de LTh P/P (p=0,02, Mann-Whitney) y LTc lobulillares (p=0,42; T test-Welch) en los casos con mayor severidad de hepatitis. La expresión de PD-1 se detectó en un bajo porcentaje de células del infiltrado y solo en un grupo reducido de casos, mayoritariamente HBeAg+. En cuanto al perfil de expresión antigénico viral, en la mayoría de los casos se identificó un patrón hepático de mutua exclusión dado que en el 86,66% de los casos se observó expresión del HBcAg en ausencia de marcación del HBsAg (p=0,002, Fisher). A su vez, todos los pacientes con expresión de HBcAg+ a nivel hepático fueron HBeAg+ (p=0,0003; Fisher), asociándose estos casos a mayor severidad de hepatitis (p=0,006; Fisher) y mayor frecuencia de LTh P/P (P=0,04; T test-Welch) y de LTreg tanto P/P (p=0,03; T test) como lobulillar (p=0,03; Mann-Whitney).

Conclusiones: La interacción dinámica entre la respuesta inmune y la actividad viral determinan el curso de la infección crónica por HBV. En el presente trabajo se observaron distintos perfiles de expresión antigénica en donde la presencia hepática del HBcAg reflejaría un estadio de replicación viral activa asociada al status HBeAg+. Durante este estadio se favorecería el microambiente hepático regulador, con un aumento de LTreg tanto P/P como lobulillar tendientes a mantener la cronicidad de la infección. Finalmente, se destaca el rol clave de los LTc lobulillares en el proceso de injuria hepática.

MI 163

0320 - ASPECTOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS DE PACIENTES INFECTADOS CON EL VIRUS DENGUE EN POSADAS, MISIONES

HANKE, Silvina Elizabeth [1] | SALVATIERRA, Karina Alejandra[2] | DESCHUTTER, Enrique Jorge[2] | MAC GANN, Miguel Ángel[3] | PEREYRA, Claudia Mariela[3] | JORDÁ, Graciela Beatriz[2]

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES, UNAM/CONICET [1]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES, UNAM [2]; INSTITUTO DE PREVISIÓN SOCIAL DE MISIONES [3]

Introducción y Objetivos: El dengue es la enfermedad viral más importante transmitida por mosquitos a humanos por su alta morbimortalidad y el potencial de diseminación de su vector Aedes aegypti. Se estima que anualmente ocurren 50 millones de casos y aproximadamente 2,5 billones de personas viven en zonas endémicas. El objetivo de este trabajo fue describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes de la obra social del Instituto de Previsión Social de Misiones (IPSM) afectados por el virus Dengue durante el brote ocurrido en la ciudad de Posadas en el año 2016.

Materiales y Métodos: Se utilizaron muestras de suero obtenidas en período agudo y convaleciente de pacientes febriles y con síntomas de la enfermedad que concurrieron al IPSM, en el período comprendido entre febrero y abril de 2016. La detección del antígeno NS1 y los anticuerpos IgM e IgG, se realizó mediante la técnica de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), utilizando el kits comerciales DENV Detect™ ELISA (InBios International Inc. USA). Los datos fueron recopilados en una planilla Excel, y se realizó el análisis estadístico con el programa Statgraphics Centurion® XVI.

Resultados: Entre Febrero y Abril del 2016 se analizaron 108 muestras pareadas de suero. El rango de edad de estos pacientes estuvo comprendido entre los 6 y 84 años, con una media de 42,13 años (ds=18,3). El 66,7% (72/108) de los pacientes eran mujeres. En todos los casos se trataron de pacientes ambulatorios. La primera de las muestras pareadas se utilizó para la detección del antígeno NS1, de las cuales el 59,3% fueron positivas. A las muestras negativas, se les realizó la técnica de ELISA para la detección del anticuerpo IgM, encontrando al mismo en 16 de ellas (36,4%). La muestra del período de convalecencia, fue utilizada para investigar la presencia de anticuerpos IgG, detectado en el 42,6% de las muestras analizadas. De este modo, se observó que del total de muestras pareadas, 74,1% fueron positivas, ya sea por la detección del antígeno, o de los anticuerpos IgM o IgG. Al realizar el análisis estadístico, no se encontró diferencia significativa entre la edad de los pacientes y la infección por dengue ($p = 0,719$). La edad media de las muestras positivas fue de 43,14 años (ds 18,55). Sin embargo, se halló una mayor proporción de hombres con dengue, frente a mujeres que presentaron la infección ($p = 0,04$; OR = 2,91; IC95%: 1,002 – 8,456). Se analizó la asociación entre la infección por dengue y las siguientes variables: exantema, dolor abdominal, fiebre, vómito, mialgia, artralgia, cefalea, dolor retroocular, hematocrito>48, Plaquetas<140.000 y glóbulos blancos<4.000. Se halló diferencia estadísticamente significativa con hematocrito>48 ($p=0,004$) y glóbulos blancos<4.000 ($p=0,012$). Las manifestaciones clínicas más comunes fueron: fiebre (98,8%), mialgia (93,8%), cefalea (88,8%) y artralgia (80%).

Conclusiones: Se observó un alto porcentaje de casos de Dengue confirmados, coincidiendo con lo reportado a nivel local y provincial. Los síntomas referidos concuerdan con los aspectos clínicos ya conocidos de esta enfermedad.

MI 164

0350 - COINFECCIÓN POR MÚLTIPLES GENOTIPOS DE VPH DE ALTO RIESGO EN LESIONES CERVICALES PRECANCEROSAS Y CANCEROSAS DE MUJERES PROCEDENTES DE LA REGIÓN LITORAL DEL ECUADOR

SANCHEZ GILER, Sunny Eunice [1] | CEVALLOS, Karen[2] | ESPINOSA GARCIA, Maylen[3] | ESPAÑA GARCÍA, Karool[4] | ZAMBRANO, Juan Diego[5] | BEDOYA, Cesar[6]

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS, UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPÍRITU SANTO [1]; UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPÍRITU SANTO [2]; HOSPITAL IESS BABAHOYO [3]; HOSPITAL IESS LOS CEIBOS [4]; UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPÍRITU SANTO [5]; INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION EN SALUD PUBLICA "INSPI" [6]

Introducción y Objetivos: El Virus del Papiloma Humano (VPH) es el agento etiológico del cáncer cervicouterino (CaCU). En Ecuador, 2094 casos de cáncer cervical nuevos son diagnosticados cada año, constituyendo el cáncer femenino más común en mujeres en edades comprendidas entre 15 a 44 años. En investigaciones realizadas en Asia, determinan que, si bien la presencia de las infecciones múltiples no presenta una alta prevalencia, existen combinaciones basadas en los VPH 16, 52, 53 y 58, que suelen presentarse con mayor frecuencia. Estos hechos demuestran que ciertas combinaciones tienen más peso en el desarrollo de lesiones cervicales que otras. La mayor parte de los estudios efectuados en Ecuador presentan múltiples discrepancias en cuanto a la prevalencia de los genotipos de VPH de mayor circulación. Investigaciones recientes muestran que el VPH 16 presenta una alta frecuencia en la población femenina, seguido por el VPH 58, situación similar a la reportada en Brasil y México. Considerando este contexto, el presento estudio tuvo como objetivos lo siguiente: - Establecer la prevalencia de las infecciones múltiples por diferentes genotipos del VPH en la pacientes del estudio. - Identificar las principales combinaciones de genotipos de VPH de alto riesgo - Correlacionar las variables clínico-epidemiológicas de las pacientes del estudio con las principales combinaciones de genotipos de alto riesgo de VPH identificadas.

Materiales y Métodos: El estudio realizado fue observación de corte transversal descriptivo. El estudio comprendió 320 mujeres mayores a 30 años procedentes de la región Litoral del Ecuador las cuales presentaban lesiones cervicouterinas previas.

Resultados: Se determino que 300 muestras fueron positivas para VPH. De este grupo, 276 presentaron infecciones múltiples por diferentes genotipos de VPH. Los genotipos más prevalentes fueron los VPH 58, 31, 33, 35, 70 y 16. Las combinaciones más frecuentes fueron VPH 16-58, VPH 16-58-70, VPH 16-31-58 y VPH 16-33-58. Al realizar las pruebas de asociación se encontró que las combinaciones VPH 16-58 y VPH 16-58-70 presentaron valores de asociación significativos con las lesiones de cáncer cervical y las lesiones cervicales HSIL.

Conclusiones: La mayor parte de los genotipos identificados pertenecen a la especie 9 del género Alphapapillomaviridae, destacando la alta frecuencia del VPH 58. Se destaca es la alta frecuencia de infecciones múltiples, donde las combinaciones basadas en la coinfección VPH 16-58 sobresalen del resto. Estas combinaciones presentan un asociación significativa con la presencia de lesiones cervicales HSIL y CaCU. Los resultados obtenidos plantean el posible escenario de introducir la vacuna comercial GARDASIL 9 en el esquema vacunal oficial del Ecuador, y del resto de países de la región.

Presentaciones orales CAM 2

Micología básica, Micología clínica, Microbiología industrial, Vacunas, Virología básica, Virología clínica

Jueves 26 de septiembre
17:00 – 18:30 h
Sala F

Oral JU 1

0161 - LA VÍA DE SENSORES DE ÁCIDOS NUCLEICOS CITOPLASMÁTICOS CGAS-STING DETECTA EL GENOMA DE LOS BACULOVIRUS E INDUCE LA PRODUCCIÓN DE INTERFERONES DE TIPO I Y III EN CÉLULAS DE MAMÍFEROS

AMALFI, Sabrina | MOLINA, Guido Nicolás | TABOGA, Oscar | ALFONSO, Victoria

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO-INTA-CONICET)

Introducción y Objetivos: La respuesta inmune innata es la primera línea de defensa contra las infecciones virales. Los sensores citosólicos de ácidos nucleicos, presentes en diversos tipos celulares de mamíferos, están involucrados en la detección de virus DNA o RNA y cumplen un papel relevante en el control temprano de la infección. Los baculovirus son virus envueltos, dsDNA, patógenos de insectos. Si bien no pueden infectar células de mamífero, son capaces de transducir genes bajo la regulación de un promotor adecuado en variados tipos celulares. Además, está descripta la capacidad de estos virus en despertar una potente respuesta inmune innata beneficiosa para su uso como vacunas o como inmunomoduladores y perjudicial para su utilización como vectores virales para el delivery de genes. Previamente, hemos demostrado en nuestro laboratorio, que el citoplasma es el principal destino que alcanza el genoma baculoviral en distintos tipos celulares no inmunes de mamífero. Así, el objetivo de este trabajo fue estudiar la participación de moléculas de las vías de detección de DNA citosólico en la respuesta desencadenada por la infección no productiva con baculovirus.

Materiales y Métodos: La vía cGAS-STING en fibroblastos murinos se estudió mediante edición génica por CRISPR-Cas9, mientras que en las células epiteliales humanas HEK293 y HEK293 T se realizaron estudios de transcomplementación con cGAS o cGAS y STING, respectivamente. La actividad antiviral inducida en las

células por los baculovirus se evaluó a partir de infecciones con el virus de la estomatitis vesicular. Además, se evaluaron las eficiencias de expresión de un transgén portado en el genoma baculoviral y se realizaron mediciones del mRNA de distintas citoquinas por RT-qPCR.

Resultados: Se observó que STING es necesario para el establecimiento de un estado antiviral por baculovirus en células de mamífero no inmunes y se determinó que el genoma es detectado por al menos dos vías que llevan a la activación de STING. El detector cGAS indujo la respuesta celular más potente y fue necesario para la producción de IFN beta. La activación de STING, de un modo cGAS independiente, dio lugar en células epiteliales humanas, a la producción de IFN lambda, lo que sugiere la participación de los IFN tipo III en el estado antiviral inducido por baculovirus. Por otra parte, se demostró la participación de cGAS y STING en una fuerte atenuación de la eficiencia de expresión de un gen reportero vehiculizado por baculovirus. Adicionalmente, se determinó que la respuesta antiviral y la producción de IFN beta no se ven afectadas al inhibir el detector de DNA citosólico RNA Pol III, lo que muestra que ésta no es una vía relevante en el caso de los baculovirus.

Conclusiones: La detección del genoma baculoviral por la vía de detección de ácidos nucleicos GAS-STING cumple un papel determinante en el establecimiento del estado antiviral que se produce, dado por IFN I y III, y en la eficiencia de los baculovirus como transportadores de genes.

Oral JU 3

0538 - LEVADURAS INDÍGENAS PRODUCTORAS DE SISTEMAS MULTI-ENZIMÁTICOS QUE DEGRADAN LA PARED CELULAR DE BAYAS DE UVAS DURANTE EL PROCESO DE VINIFICACIÓN

LONGHI, Sara Jaquelina | MARTÍN, María Carolina | **MORATA DE AMBROSINI, Vilma Inés**

FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS A LA INDUSTRIA (UNCUYO)- CONICET

Introducción y Objetivos: Las levaduras desempeñan un papel fundamental en la vinificación, tanto en etapas iniciales, donde predominan las del tipo no-*Saccharomyces*, como en etapas posteriores donde se sostiene el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, como principal responsable de la fermentación alcohólica. Entre las transformaciones que estos microorganismos realizan se incluye la despolimerización catalizada por sus complejos enzimáticos extracelulares, al degradar polímeros de paredes celulares. En este sentido, colaboran en la liberación de jugo, sustancias polifenólicas, compuestos de aroma y sabor, que enriquecen al mosto-vino y contribuyen con la calidad del producto final. Es de gran interés el estudio de enzimas despolimerizantes de microorganismos de superficie de uva para conocer las actividades enzimáticas involucradas en proceso de vinificación y sus efectos. El objetivo de este trabajo fue seleccionar e identificar feno y genotípicamente cepas de levaduras autóctonas, previamente aisladas de superficie de uva de la región DOC San Rafael-Mendoza, en función de su capacidad para producir sistemas enzimáticos despolimerizantes de paredes celulares de la baya de uva, para conocer su intervención en el proceso de vinificación.

Materiales y Métodos: Se realizó una primera selección en base a actividades enzimáticas pectinasas, celulasas, xilanasas, amilasas, ß-glucosidasas y proteinasas, se detectaron mediante el método semicuantitativo en placa con medios inductores específicos para cada actividad. La selección se llevó a cabo a baja temperatura (15°C) y a temperatura tradicional de maceración (28°C). La actividad pectinolítica se determinó valorado los azúcares reductores liberados desde un medio con pectina, mediante el reactivo 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Las cepas seleccionadas se identificaron a nivel de especie siguiendo criterios taxonómicos según sus características morfológicas y fisiológicas, y mediante técnica de biología molecular PCR-RFLP de la región ITS1-5.8S-ITS2 del complejo génico de ADNr nuclear.

Resultados: De un total de 96 cepas aisladas se seleccionaron 16 cepas de levaduras por sus habilidades para hidrolizar polímeros, resultando ser algunas del tipo yeast-like (hongos que presentan estadíos en forma de levadura). Se identificaron los siguientes géneros: *Metschnikowia*, *Debaryomyces*, *Torulaspora*, *Hanseniaspora*, *Aureobasidium*, *Pichia*, *Candida*. Todas las cepas identificadas presentaron actividad pectinolítica y xilanolítica, mientras que dos de ellas, pertenecientes al género *Aureobasidium*, presentaron todas las actividades estudiadas.

Conclusiones: Este trabajo dará lugar a un banco de cepas de levaduras del ecosistema enológico que permitirán estudiar el aporte de las diversas actividades despolimerizantes en el proceso de vinificación, produciendo la liberación de pigmentos y sustancias bioactivas entre muchos otros efectos tecnológicos que contribuyen a incrementar la calidad del producto final.

Oral JU 4

0553 - EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DEL VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO EN ARGENTINA, 2017-2019

RUSSO, Mara Laura [1] | AVARO, Martin[1] | BENEDETTI, Estefania[1] | CZECH, Andrea[1] | MACHICADO, Erika[1] | PARDON, Fabian[1] | ZAMORA, Ana María[2] | BONVEHI, Pablo[3] | FOUSSAL, Maria Delia[4] | MYKIETIUK, Analia[5] | PONTORIERO, Andrea[1] | BAUMEISTER, Elsa[1]

SERVICIO VIROSIS RESPIRATORIAS, INEI- ANLIS "CARLOS G. MALBRÁN" [1]; DIVISIÓN VIROLOGÍA, LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA [2]; CEMIC [3]; HOSPITAL DR. JULIO C. PERRANDO [4]; INSTITUTO MÉDICO PLATENSE [5]

Introducción y Objetivos: En Argentina, como en todo el mundo, el virus respiratorio sincicial (RSV) es la principal causa de casos graves de bronquiolitis y neumonía en especial en niños menores de 5 años y adultos mayores de 65 años de edad. Existen 2 subtipos de RSV, RSV-A y RSV-B y han sido identificados al menos 13 genotipos de RSV-A y 22 genotipos de RSV-B según la variabilidad genética de la segunda región hipervariable (2RHV) de la glicoproteína de unión G. El objetivo de este estudio es la caracterización genómica del RSV y su relación con la presentación clínica de los pacientes.

Materiales y Métodos: Se recibieron entre los años 2017 y principios de 2019, 1572 muestras clínicas de niños menores de 5 años y de adultos mayores provenientes de diferentes centros del país: Tucumán, La Rioja, Chaco, CABA y La Plata. Las muestras fueron remitidas teniendo en cuenta diferentes definiciones de caso: infección respiratoria aguda grave (IRAG) con y sin fiebre, enfermedad tipo influenza con y sin fiebre e infección respiratoria aguda. Luego de la extracción del RNA, se les realizó la técnica de real time RT-PCR para RSV y la subtipificación fue realizada mediante una dúplex real time RT-PCR. Se realizó secuencia Sanger de la 2RHV del gen G de muestras de ambos grupos genéticos.

Resultados: Durante el año 2017 se recibieron 605 muestras de las cuales 241 (40%) resultaron positivas para RSV, durante 2018 se recibieron 854 muestras de las cuales 288 (34%) resultaron positivas para RSV y durante 2019 hasta la semana epidemiológica 11, se recibieron 118 muestras de las cuales 53 (45%) resultaron positivas para RSV. Un 57% de las muestras positivas para RSV con datos clínicos completos, cumplían con la presentación clínica de IRAG con fiebre mientras que el 43% con la definición de IRAG sin fiebre. Un 90% (217/241) y un 10% (24/241) de las muestras positivas para RSV del 2017 pertenecieron a los subtipos A y B respectivamente. Durante 2018 un 6% (17/288) corresponden al grupo A y un 74% (212/288) al grupo B. Durante 2019 un 36% (19/53) pertenecieron al grupo A y un 53% (28/53) al grupo B, mientras que un 11% (6/53) no pudo ser subtipificado. Se secuenciaron 20 muestras de 2017, 11 de 2018 y 8 de 2019. Las 21 cepas secuenciadas pertenecientes al grupo A se agruparon en el clado genético ON1 y todas poseen la duplicación de 72 nucleótidos, mientras que las 18 cepas secuenciadas pertenecientes al grupo B se agruparon dentro del clado genético BA9.

Conclusiones: Durante 2017 fue predominante la circulación de RSV-A, mientras que durante 2018 fue predominante la de RSV-B, pero en todos los casos hubo co-circulación de ambos subtipos. Las presentaciones clínicas predominantes en los pacientes con RSV positivo fueron la IRAG con y sin fiebre en proporciones casi similares prevaleciendo la IRAG con fiebre solo en un 14%. La continua vigilancia epidemiológica y molecular del RSV nos permitirá obtener información del virus para conocer y entender su evolución y su relación con la presentación clínica en los pacientes.

Oral JU 5

0555 - DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE ASPERGILOSIS INVASORA POR PCR EN TIEMPO REAL

REFOJO, Nicolás [1] | HEVIA, Alejandra Inés[1] | ABRANTES, Ruben Antonio[1] | FERNÁNDEZ, Julián[1] | DAVEL, Graciela Odelsia[1] | IANNONE, Leopoldo[2] | CANTEROS, Cristina Elena[1]

DEPARTAMENTO MICOLOGÍA, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS "DR. C. G. MALBRÁN", ANLIS [1]; DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD Y BIOLOGÍA EXPERIMENTAL - FCEN - UBA [2]

Introducción y Objetivos: Las infecciones fúngicas Invasoras (IFI) más frecuentes son la aspergilosis invasora (AI) y la candidiasis invasora, ambas de gran importancia médica en pacientes neutropénicos por sus elevados valores de morbi-mortalidad. La identificación precoz y precisa de especies es clave para realizar una terapia antifúngica adecuada. El EORTC/MSG clasifica las IFIs, incluida la AI, en probada si existe confirmación micológica desde muestras estériles con clínica o radiología compatible, probable cuando existe al menos, un criterio relativo al huésped, uno clínico y uno micológico desde muestras respiratorias o detección de antígeno y posible cuando existen criterios relativos al huésped y clínico, pero sin hallazgo micológico. El objetivo de este trabajo fue adecuar a las condiciones de nuestro laboratorio una PCR en tiempo real (qPCR) descripta en 2016 por Salehi y cols., que detecta ADN de *Aspergillus* y evaluar su utilidad en el diagnóstico de la AI.

Materiales y Métodos: El ADN fue extraído con QIAamp DNA Blood&Tissue (Qiagen), previo tratamiento con liticasa. En cada prueba se incluyeron un control de amplificación, un control negativo y uno de inhibición. Para determinar el límite de detección (LDD) se utilizó ADN de *A. fumigatus* y para conocer la especificidad analítica, ADN de 36 especies diferentes de *Aspergillus*. La técnica fue evaluada con 16 ADN de *Aspergillus* spp. y con 91 muestras clínicas (53 de origen respiratorio, 27 biopsias y 11 de sistema nervioso central) de 91 pacientes, estudiadas previamente por examen directo, cultivo y secuenciación de ITS2: 8 con AI probada/probable, 38 con IFI probada/probable no-AI y 45 muestras de pacientes con IFI posible.

Resultados: Los resultados mostraron un rango dinámico lineal de DNA cuantificable de 10 ng a 10 fg (eficiencia de 87,8%) y un LDD de 10 fg para un Cq<=37. La qPCR identificó el 100% de los *Aspergillus* analizados y fue positiva para 4 de 36 especies de otros géneros (especificidad analítica: 88,9%) que incluyó 1/16 *Fusarium* sp., 1/2 *Curvularia* sp., 1/2 *Purpureocillium* sp. y 1/2 *Exophiala* sp. La qPCR detectó ADN de *Aspergillus* spp. en los materiales de los 8 pacientes con AI probada/probable y resultó negativa en las muestras de los 31 pacientes con IFI no-AI y las 45 de pacientes con IFI posible. Sin embargo, la qPCR resultó positiva en las 7 muestras restantes de pacientes con IFI no-AI (donde se habían detectado 2 *Fusarium* sp., 3 *Candida albicans*, 1 *Penicillium citrinum* y 1 *Purpureocillium lilacinum*). La técnica evaluada tuvo 100% de sensibilidad, 91,6% de especificidad y valores predictivos positivo (VPP) de 53,3% y negativo (VPN) de 100%.

Conclusiones: La qPCR analizada tiene una alta sensibilidad y especificidad para detectar AI en pacientes con IFI probada/probable. El alto VPN indicaría que una qPCR negativa descarta una AI, sin embargo, una qPCR positiva debe ser evaluada utilizando la secuenciación de ITS2 para determinar el agente causal.

Oral JU 6

0801 - ACTIVIDAD ANTIVIRAL DE ALCALOIDES DE ORIGEN VEGETAL FRENTE A LOS VIRUS ZIKA Y DENGUE

GIANNONE, Denise A. [1] | PICCINI, Luana E.[2] | BRUNETTI, Jesús E.[1] | CASTILLA, Viviana[1]

LAB. VIROLOGÍA. DEPTO. QUÍMICA BIOLÓGICA, FAC. CS. EXACTAS Y NATURALES, UBA [1]; LAB. VIROLOGÍA, DEPTO. QUÍMICA BIOLÓGICA. FAC. CS. EXACTAS Y NATURALES, UBA. IQUIBICEN (CONICET) [2]

Introducción y Objetivos: Los flavivirus dengue (DENV) y Zika (ZIKV) son importantes patógenos humanos para los cuales no se dispone de una terapia antiviral específica. En trabajos anteriores habíamos demostrado la actividad antiviral del harmol, una ß-carbolina de origen vegetal, frente a DENV. En este trabajo se investigó la actividad antiviral de alcaloides de origen vegetal como las ß-carbolinas harmol, harmina, harmano y norharmano frente a ZIKV y el alcaloide isoquinolínico berberina frente DENV y ZIKV, en cultivos de células Vero.

Materiales y Métodos: La citotoxicidad de los compuestos se determinó por el método de MTT y se calculó la CC50 (concentración citotóxica 50%). La actividad antiviral de los compuestos se evaluó realizando un ensayo de inhibición del rendimiento viral. La infectividad se cuantificó por el método de formación de placas y se calculó la CE50 (concentración efectiva 50%). La expresión de la proteína viral E se analizó mediante ensayos de inmunofluorescencia indirecta y de western blot. Para cuantificar el efecto virucida de la berberina, alícuotas de virus se incubaron con diferentes concentraciones de compuesto y se cuantificó la infectividad remanente.

Resultados: De las ß-carbolinas ensayadas, sólo el harmol exhibió efecto inhibitorio frente a ZIKV (CE50: 26,1 µM). Por otra parte, la berberina inhibió la multiplicación de ZIKV y de todos los serotipos de DENV obteniéndose valores de CE50 de 5,7 µM, 9,1 µM, 2,4 µM, 11,6 µM and 6,3 µM para ZIKV, DENV-1, -2, -3 y -4, respectivamente. El análisis de la expresión de la glicoproteína E mediante ensayos de inmunofluorescencia mostró que la berberina produjo además la reducción significativa del número de células infectadas. La presencia de berberina durante las primeras 8 h de la infección no afectó la producción de DENV o ZIKV, mientras que el tratamiento con el compuesto entre las 8 y las 24 h post-infección provocó la reducción del rendimiento viral y de la expresión de proteína viral E. Se examinó también el efecto de la berberina sobre la producción de partículas virales intra- y extra-celulares y se demostró que el compuesto afecta la formación de las partículas virales infecciosas. Por último, se comprobó que este compuesto posee además efecto virucida frente a DENV y ZIKV.

Conclusiones: De las ß-carbolinas ensayadas, solamente el harmol mostró actividad antiviral frente a ZIKV, mientras que el compuesto berberina inhibió de manera dosis-dependiente la multiplicación de todos los serotipos de DENV y de ZIKV en células Vero. La berberina afectaría eventos tardíos de la replicación viral, impidiendo la formación de partículas virales infecciosas. Sumado a esto, el compuesto berberina es capaz de provocar la inactivación directa de las partículas virales.

Oral JU 7

0202 - EVALUACIÓN DE UN CANDIDATO A VACUNA ANTIRRÁBICA BASADO EN VIRUS VACCINIA ANKARA MODIFICADO RECOMBINANTES

GARANZINI, Debora [1] | DEL MÉDICO ZAJAC, María Paula[2] | MICUCCI, Matias[1] | JURADO, Rosana[1] | PÉREZ, Oscar[1] | CALAMANTE, Gabriela[2]

SERVICIO DE VACUNA ANTIRRÁBICA. ANLIS-MALBRÁN [1]; INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO). INTA-CONICET. [2]

Introducción y Objetivos: La rabia es una enfermedad zoonótica de evolución aguda, habitualmente mortal. Es causada por el virus de la rabia, que se transmite entre algunas especies de sangre caliente y el hombre. Por

su ciclo de transmisión, se aborda con el concepto «Una sola salud» por las oportunidades de protección de la salud pública mediante las políticas de prevención y control de patógenos en las poblaciones animales. Para prevenir la rabia se usan vacunas basadas en virus rábico inactivado, donde su producción requiere de laboratorios con altos niveles de bioseguridad porque se manipulan grandes cantidades de un agente infeccioso que causa enfermedad (tanto para los animales como para las personas). En este contexto, nuestro trabajo se focalizó en la obtención de vacunas antirrábicas veterinarias seguras y efectivas, que eviten la manipulación del patógeno que causa enfermedad durante su producción. Así, obtuvimos virus vaccinia Ankara modificado (MVA) que expresan la glicoproteína (RG) del virus rábico. Existen numerosos antecedentes que demuestran que estos vectores virales no replican productivamente a mamíferos pero son capaces de expresar la proteína foránea induciendo respuestas inmunes específicas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la protección inducida por los virus recombinantes MVA-RG en ratones.

Materiales y Métodos: Grupos de 5 ratones BALB/c fueron inmunizados (días 0 y 21) con 10ˆ6 unidades formadoras de placa de MVA o MVA-RG. Se incluyeron grupos de animales inmunizados con VERORAB (vacuna comercial) o PBS. Durante 5 meses se realizaron sangrías exploratorias para evaluar la presencia de anticuerpos específicos contra el virus rábico por ELISA. A los 162 días después de la primera inmunización, los animales fueron desafiados con virus rábico por vía intracerebral y se registraron las muertes producidas durante los 14 días post desafío.

Resultados: La inmunización con MVA-RG indujo una respuesta específica de anticuerpos antirrábicos en suero, que aumentaron después de la aplicación de la dosis refuerzo y se mantuvieron estables durante al menos cinco meses. Además, se determinó que la proporción de isotipos IgG2a / IgG1 fue de 2,72, lo que indica un perfil de respuesta inmune del tipo Th1. En los animales inmunizados con MVA no recombinante o PBS no se detectaron anticuerpos anti-virus rábico y no sobrevivieron al desafío. En cambio, la vacunación con VERORAB o MVA-RG indujo una protección frente al desafío del 100% o del 80%, respectivamente.

Conclusiones: Los virus MVA-RG inducen respuestas inmunes de larga duración que protegen a los ratones contra el desafío del virus de la rabia. Los resultados obtenidos alientan la evaluación de la potencia del candidato vacunal MVA-RG por el método del National Institute of Health (NIH), requisito del SENASA para vacunas antirrábicas de uso veterinario.

Oral JU 8

0923 - DETECCIÓN DE CASOS DE VIRUS DE LA ENCEFALITIS DE SAN LUIS (SLEV) EN DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA, 2019

LUPPO, Victoria | FABBRI, Cintia | BRIGGILER, Ana María | SINCHI, Anabel | LEVIS, Silvana | MORALES, María Alejandra

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES VIRALES HUMANAS (INEVH) "DR. JULIO I. MAIZTEGUI"

Introducción y Objetivos: El SLEV es endémico en Argentina y hasta el año 2005 solo se habían detectado casos esporádicos en humanos. El primer brote de infección en humanos en Argentina y en América del Sur ocurrió en el año 2005 en la provincia de Córdoba. Entre 2006 y 2008, la intensificación de la vigilancia laboratorial de las encefalitis por flavivirus permitió detectar casos humanos aislados en Córdoba, Entre Ríos, Chaco, Santa Fe, Tucumán, Jujuy y Buenos Aires. Al primer brote de SLEV en el país, le sucedieron otros en los años 2010 en el área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA), 2011 en la ciudad capital de la provincia de San Juan y 2015 en la ciudad de Pergamino, provincia de Buenos Aires. El diagnóstico de SLEV en humanos se realiza fundamentalmente por detección de anticuerpos específicos en suero y/o líquido cefalorraquídeo (LCR) ya que la viremia es muy baja, de escasa duración y anteceden a la sintomatología. El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de laboratorio y el análisis de las manifestaciones clínicas en los pacientes con etiología por SLEV, detectados en Argentina durante 2019, algunos de los cuales se dieron en el contexto de brotes de dengue.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 333 muestras, 229 (69%) sueros y 104 (31%) LCR de 242 pacientes con clínica compatible con encefalitis por flavivirus y/o síndrome febril inespecífico (SFI) compatible con dengue recibidos en el Centro Nacional de Referencia desde la semana 1 a 19, 2019. El algoritmo de diagnóstico incluyó el tamizado inicial para detección de IgM en suero y/o LCR de todos los pacientes por MAC-ELISA para SLEV, West Nile (WNV) y Dengue (DENV) fundamentalmente. La confirmación serológica se realizó por detección de IgM en LCR y/o seroconversión para SLEV en par serológico (agudo-convalecencia) por técnica de neutralización por reducción del número de placas (PRNT90) en VERO C76, evaluando cruces serológicos con un panel de flavivirus. Las muestras de suero y/o LCR con 1 a 4 días de evolución se procesaron además por qRT-PCR para SLEV y WNV (n=76). Se analizaron las fichas epidemiológicas para la caracterización clínica de los casos confirmados.

Resultados: Se detectaron por MAC-ELISA para SLEV 60 (+)/ 333 muestras estudiadas (48 sueros 21% y 12 LCR 11.5%). Las muestras evaluadas por qRT-PCR resultaron todas negativas. En total se confirmaron 6 casos por PRNT90, procedentes de las provincias de Buenos Aires [2], Santa Fe [2], Entre Ríos (1, caso fatal) y Santiago del estero [1]. Otro caso quedó clasificado como probable SLEV (sin seroconversión en PRNT90); 9 casos se clasificaron como infecciones confirmadas por flavivirus (en los cuáles se obtuvieron resultados positivos para más de un flavivirus por PRNT90 y/o MAC-ELISA en LCR) y finalmente 10 casos fueron clasificados como

probables flavivirus (todos con mayor reactividad para SLEV por MAC-ELISA). Entre los signos y síntomas predominantes de los casos confirmados están: fiebre 91.7%, cefalea 75% y síndrome confusional 58.3%; en menor proporción: mialgia y encefalitis 33%, dolor retro ocular, inyección conjuntival y náuseas entre 8-16% de los casos.

Conclusiones: La intensificación de la vigilancia del síndrome febril inespecífico y/o con sintomatología neurológica ha sido una estrategia útil para la mejora en la detección de Encefalitis por Flavivirus en nuestro país. Fue a través de esta estrategia de confirmación serológica que se lograron confirmar casos de SLEV que podrían haber quedado clasificados como Dengue, con lo cual se remarca la importancia del estudio por laboratorio de casos con una clínica atípica e intentar la confirmación etiológica cuando se detecten nuevos casos en un área.

Pósters

Presentación de pósters CAM 2

Jueves 26 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

CAM – Antimicrobianos

JU 001

0468 - BIOENSAYOS DE TOXICIDAD EN COMPLEJOS DE LAPACHOL EMPLEANDO COMO MODELO BIOLÓGICO AL NEMATODO *CAENORHABDITIS ELEGANS*

BRITOS FABIÁN, Luciana[1] | FLORENCIA, Kronberg[2] | MUNARRIZ, Eliana[3] | **AUDISIO, Carina** [1]

INIQUI-CONICET, UNSA [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIOCIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES (CONICET-UBA) [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIOCIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES (CONICET-UBA) [3]

Introducción y Objetivos: El lapachol (HLap) se extrae de la madera del árbol conocido como lapacho rosado (Tabebuia avellanedae); es una naftoquinona de fórmula: 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona con características farmacofóricas, muy usado en medicina alternativa. Presenta toxicidad o efectos colaterales en concentraciones altas, por lo que se han sintetizados compuestos de coordinación con metales de transición (Zn, Mn) y el HLap, como ligando principal, para intentar contrarrestar esa situación. Estos compuestos presentaron un fuerte efecto anti-Staphylococcus aureus. El objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad de dichos complejos de coordinación empleando el modelo del nematodo C. elegans.

Materiales y Métodos: Se estudió la toxicidad de los complejos lapachol-Mn y lapachol-Zn en diferentes concentraciones (60, 30 ppm) y del lapachol (sin coordinar) en el porcentaje que se encuentra en cada complejo. Se utilizó dimetilformamida (DMF) como solvente y vancomicina (5 ppm), como control positivo de inhibición de cepas de S. aureus resistente a meticilina. Se evaluó la toxicidad con el bioensayo en medio líquido y la cepa utilizada fue C. elegans N2 var. Bristol. Los nematodos crecieron en agar NGM según técnicas estandarizadas; se utilizó la cepa E. coli OP50-1 como fuente de alimento. Se mezcló 400 µL de las soluciones en buffer M9 con 50 µL de E. coli OP50-1 en cada pocillo de una microplaca de 24 pocillos (por cuadruplicado). Se agregó DMF a cada pocillo para que todos tengan la misma concentración final de DMF. Se transfirieron 20 nematodos en estadio L1 a cada pocillo con 50 µL del buffer M9. Se incubó a 20 °C durante 96 horas. Se detuvo el ensayo por incubación en estufa (10 min a 80 °C) y se agregaron 0,25 mL de solución de Rosa Bengala 0,5 g/L para teñir los gusanos y facilitar el recuento. Se almacenaron los ensayos a 4 °C hasta su medición. Se determinó: Reproducción (número de gusanos testados y su descendencia); Crecimiento (longitud del cuerpo de los nematodos) y Fertilidad (porcentaje de grávidos (≥ 1 huevo dentro del cuerpo)).

Resultados: Se observó que la reproducción no se vio afectada con respecto al solvente DMF, salvo cuando se usó 60 ppm de los complejos de Zn y Mn. Al analizar el crecimiento solo se detectaron diferencia significativa con el solvente DMF cuando se los trata con 60 ppm del complejo de Zn y de Mn y con el lapachol puro a 54 ppm. Sin embargo, la fertilidad no se vio afectada luego de tratar los nematodos. La longitud media final de los animales estuvo dentro de valores normales (1500 ± 30 µ;m), y la fertilidad en las distintas muestras analizadas fue ≥ 98%; se observó que en su gran mayoría todos los animales eran grávidos, por lo que los complejos y el lapachol no afectarían el desarrollo, el crecimiento y la fertilidad de los nematodos. Sin embargo, sí se detectaron diferencias en la reproducción de los nematodos tratados porque disminuyó el número de descendientes en comparación con los controles.

Conclusiones: Los resultados obtenidos son promisorios porque no revelan un efecto tóxico importante del compuesto de coordinación analizado.

JU 002

0469 - BLUE CARBA DISK (BCD): DETECCIÓN Y CLASIFICACIÓN RÁPIDA DE CARBAPENEMASAS UTILIZANDO UN MÉTODO COLORIMÉTRICO EN FORMATO DE DISCOS DE PAPEL

PASTERAN, Fernando | SOKEN, Luciana | DATTERO, Maria Elena | ALBORNOZ, Ezequiel | RAPOPORT, Melina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INEI, ANLIS "MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: La detección de rápida carbapenemasas es de relevancia para guiar la elección del tratamiento antimicrobiano y la instauración de medidas de contención. El reconocimiento temprano del tipo de carbapenemasa, permitiría la adecuación del tratamiento empírico acorde al perfil fenotípico de cada enzima. Diversos métodos colorimétricos, como BC Test, que utilizan una solución acuosa de carbapenem e indicador de pH, han sido desarrollados para la detección rápida de carbapenemasas con buen desempeño. Sin embrago, requieren de instrumental específico, poseen vida media limitada (<8hs), alto costo comercial y no clasifican el tipo de carbapenemasa. Objetivo: Desarrollar un ensayo colorimétrico de bajo costo y larga vida media, para la detección y clasificación rápida de carbapenemasas.

Materiales y Métodos: Para el BCD, la solución reactiva fue impregnada en discos de papel. El kit consta de 3 discos, con la misma composición cuali-cuantitativa en todos sus componentes, excepto que uno de ellos (BCD-A) contiene además avibactam (inhibidor de carbapenemasas Clase A-CAC) y otro disco (BCD-B) contienen además EDTA (inhibidor de carbapenemasas Clase B-CBC). BCD fue almacenado a -20ºC. Para la validación se utilizó un panel de cepas con mecanismos previamente caracterizados por PCR/secuenciación e identificados por maldi-tof. Se incluyeron 177 aislamientos de Enterobacterales, Pseudomonas y Acinetobacter: 127 carbapenemasas positivas y 50 negativas. 10µl (1 ansada) del cultivo bacteriano fresco se re-suspendió en 400µl de agua estéril. Dentro de los 30 min, se transfirió 50µl de la suspensión sobre c/u de los discos, previamente colocados en una placa de Petri vacía. Se incubó en cámara húmeda a temperatura ambiente durante 150 min, monitoreando el viraje de color. Se consideró positivo la decoloración del azul o verde oscuro inicial hacia el verde claro o amarillo. Se clasificó como CAC un ensayo positivo con BCD y BCD-B y como CBC, cuando resultaron positivos BCD y BCD-A. Cuando todos los discos fueron positivos, se consideró como carbapenemasa Clase D (CDC) o portador de al menos 2 carbapenemasas, en base al tiempo de detección de >15 min o <=15 min, respectivamente. Se calculó la sensibilidad (SN), especificidad (ES), valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) para la detección de carbapenemasas y la sub-tipificación de clases. Se realizaron pruebas de estabilidad semanales.

Resultados: Detección de carbapenemasas: 95% SN, 100% SP y VPP, 88% VPN. Clasificación como CAC: 93% SN (100% SN para KPC), 100% SP y VPP, 97% VPN. CBC: 97% SN, 96% SP, 94% VPP, 98% VPN. CDC: 71% SN (10%SN para OXA-163), 99% SP, 100% VPP, 98% VPN. BCD permaneció estable al menos por 1 año.

Conclusiones: El BCD presentó un desempeño óptimo para evaluar CAC (KPC) y CBC. El rendimiento para detectar OXA-163 resultó en concordancia con el demostrado por otras técnicas. Frente a resultado negativo, se recomienda confirmar la presencia de carbapenemasas mediante otra metodología. Se diseño un algoritmo para maximizar la información.

JU 003

0449 - CARACTERIZACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A QUINOLONAS MEDIADA POR PLÁSMIDOS EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORES DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN LA REGIÓN ROSARIO

AQUILI, Virginia | **GONZALEZ, Agustina** | MARZI, Sabrina Anabel | CASABONNE, Cecilia

ÁREA BACTERIOLOGÍA-DPTO DE MICROBIOLOGÍA-FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS-UNR

Introducción y Objetivos: El uso de antibióticos beta-lactámicos para el tratamiento de infecciones bacterianas causadas por enterobacterias ha sido y seguirá siendo la principal línea de defensa contra estos agentes bacterianos. Sin embargo, la resistencia bacteriana a estos antibióticos ha aumentado en todo el mundo. La creciente resistencia a los antibióticos beta-lactámicos ha provocado un aumento en la prescripción de fluoroquinolonas (FQ) para el tratamiento de diferentes enfermedades infecciosas adquiridas en el hospital y en la comunidad. La resistencia a FQ es causada, principalmente, por mutaciones cromosómicas, sin embargo, en 1998, se describió la resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (PMQR). Asociada a la PMQR se describe el gen *qnr*, que ejerce protección de la diana, y un sistema de modificación química de FQ codificado por el gen *aac(6')-Ib-cr*. Los plásmidos portadores de genes *qnr*, varían ampliamente en tamaño y patrones de resistencias, aunque la mayoría son portadores de múltiples determinantes de resistencia.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 38 cepas de enterobacterias productoras de beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) recuperadas a partir de diferentes materiales clínicos de pacientes de la región Rosario. La susceptibilidad a los antimicrobianos se realizó por el método de difusión con discos (Difco) siguiendo las recomendaciones del CLSI. La detección de los genes *qnr* (*qnrA, qnrB, qnrS*) y *aac(6')-Ib-cr* se realizó mediante PCR utilizando cebadores específicos.

Resultados: La prevalencia general de los genes PMQR en las cepas en estudio fue del 68,4%, siendo el 57,9% para el gen *aac(6')-Ib-cr*y el 10,5% para los genes *qnr*. Tres de los aislamientos en los cuales se detectó el gen *qnr* portaban genes *qnrB* (7,9%); el tipo *qnrB1* resultó ser el prevalente, mientras que el gen *qnrS* se identificó en uno de los aislamientos (2,6%). El gen *qnrA* no fue detectado en los aislamientos en estudio. También se observó que de los 38 aislamientos estudiados, 36 (94,7%) presentaban resistencia a trimetoprima-sulfametoxazol (TMS).

Conclusiones: Este estudio brinda los primeros reportes de detección de genes PMQR asociados a resistencia a beta-lactámicos en aislamientos de enterobacterias en nuestra región. La combinación de resistencia a beta-lactámicos, mediada por BLEE, y a FQ, por un mecanismo PMQR, podría significar una co-selección de resistencia y, dicha co-transmisibilidad, podría corresponder a la adquisición de diferentes elementos genéticos móviles. La adquisición de estos elementos móviles podría involucrar una resistencia cruzada a otros antimicrobianos, como es el caso de TMS en las cepas estudiadas, limitando drásticamente el espectro de antibióticos a utilizar en el tratamiento de estas cepas asociadas a diversas infecciones.

JU 004

0450 - COMPARACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *CAMPYLOBACTER* SPP TERMOTOLERANTES AISLADOS DE POLLOS DE ENGORDE CRIADOS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN INTENSIVA Y FAMILIAR

VELILLA, Alejandra [1] | MENDEZ, María Alejandra[1] | TREVISI, Daniela[2] | TERZOLO, Horacio Raúl[1]

INTA BALCARCE, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL, GRUPO DE SANIDAD ANIMAL [1]; UNIDAD INTEGRADA BALCARCE (FCA, UNMDP – EEA BALCARCE, INTA) RUTA 226 KM 73,5 BALCARCE [2]

Introducción y Objetivos: *Campylobacter* spp. termotolerantes es la causa más frecuente de gastroenteritis humana en el mundo, superando a los casos ocasionados por *Salmonella* spp., *Shigella* y *Escherichia coli*. Tanto los pollos de engorde criados en sistemas intensivos de producción industrial como los criados en sistemas de semi-confinamiento al aire libre también denominados aves de traspatio o free-range son reservorios naturales de campilobacterias. La resistencia antimicrobiana es un creciente problema que afecta la salud pública. En Argentina se carece de suficiente información sobre la resistencia de *Campylobacter* spp. termotolerantes aislados de pollos de engorde criados en semiconfinamiento y su implicancia en salud pública. El objetivo del trabajo fue evaluar y comparar la resistencia antimicrobiana de *C. jejuni* y *C. coli* aislados de pollos de engorde criados en sistemas intensivos cerrados y semi-intensivos al aire libre a distintos antibióticos de uso frecuente en medicina humana y veterinaria.

Materiales y Métodos: Se analizaron 46 cepas de *Campylobacter* spp., siendo 33 aisladas de pollos criados en sistemas de producción intensiva (PI) (12 de pool de órganos y 21 de contenido de ciego), y 13 de pollos de producción familiar (PF) semi-intensiva (3 de pool de órganos y 10 de contenido de ciego), frente a 17 antimicrobianos pertenecientes a 11 diferentes familias de antibióticos. Se empleó el método de disco-difusión y los antibióticos analizados fueron: Ácido Nadilixico 30µg, Ácido Clavulánico/Amoxilina 30µg, Azitromicina 15µg, Bacitracina 10 UI, Cefalotina 30µg, Ciprofloxacina 5µg, Cefoperazona 75µg, Ceftiofur 30µg, Clindamicina 2µg, Cloranfenicol 30µg, Eritromicina 15µg, Gentamicina 10µg, Imipenem 10µg, Kanamicina 30µg, Nitrofurantoina 300µg, Norfloxacina 30µg y Tetraciclina 30µg. Se consideraron los puntos de corte establecidos en los documentos M100-S20 y M31–A2 (CLSI, 2010). Se realizó un análisis estadístico utilizando un test de ANOVA multifactorial empleando el programa R 3.5.3 (2019), con un nivel de significación del 5%.

Resultados: No se detectaron diferencias significativas entre la resistencia de las cepas aisladas de órganos y las de contenido cecal, independientemente del tipo de producción. El 100% de las cepas analizadas que fueron aisladas de contenido de ciego de pollos de PI y PF presentaron resistencia a las quinolonas (ciprofloxacina, Norfloxacina, ácido nalidixico), polipéptidos (Bacitracina) y cefalosporinas (Cefalotina, cefoperazona y cefitofur). Se detectó multiresistencia en las cepas aisladas de contenido cecal tanto de pollos de PI como en las de PF, en tanto que sólo las cepas aisladas de órganos de aves de PF presentaron multiresistencia. No se detectaron diferencias significativas entre las cepas aisladas de pollos de ambos sistemas de producción con respecto a la resistencia a los distintos antimicrobianos analizados.

Conclusiones: De acuerdo con los resultados obtenidos podría concluirse que el tipo de producción no influye sobre la generación de resistencia. Los pollos de PF no habían sido tratados con antimicrobianos, sin embargo las cepas aisladas presentaban multiresistencia, y esta podría deberse a que las aves están en contacto con otros animales de granja, mascotas y aves silvestres, así como están expuestos al medio ambiente y podrían adquirir la resistencia mediante estas interacciones. Por lo cual las aves de traspatio portadoras de campilobacterias multiresistentes tienen potencial zoonótico y podrían infectar a los seres humanos y a otras especies de animales.

JU 005

0461 - ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS POR VÍA ORAL EN INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO CAUSADAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE: ACTIVIDAD *IN VITRO* DE FOSFOMICINA Y NITROFURANTOÍNA

ELISIRI, María Elisa | BERGER, María Alejandra | MALDONADO, Ivana | FOX, Bárbara | STRIEBECK, Pablo | PASCUA, Julia | FERNÁNDEZ CANIGIA, Liliana

SECCIÓN MICROBIOLOGÍA. LABORATORIO CENTRAL. HOSPITAL ALEMÁN

Introducción y Objetivos: La emergencia de enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) en urocultivos es una realidad cada vez más frecuente, aún en infecciones urinarias no complicadas. En estos casos las opciones terapéuticas orales son limitadas debido a la alta frecuencia de resistencia asociada a otras familias de antibióticos. Es por eso que fosfomicina y nitrofurantoína vuelven a ser una alternativa terapéutica presente. El objetivo de este trabajo fue evaluar en nuestro medio la sensibilidad a fosfomicina y nitrofurantoína en enterobacterias productoras de BLEE aisladas de urocultivos.

Materiales y Métodos: Estudio observacional retrospectivo. Se utilizó el software BD Epicenter™ para recuperar los datos de aislamientos de enterobacterias productoras de BLEE obtenidos de urocultivos de pacientes adultos, mayores de 18 años, que consultaron de forma ambulatoria en nuestro hospital durante el período comprendido entre enero y abril de 2019. La identificación de los microorganismos fue realizada por medios cromogénicos y/o espectrometría de masa MALDI-TOF (Bruker Daltonics – BD). La sensibilidad a los antibióticos y detección de mecanismos de resistencia fue realizada por método automatizado BD Phoenix™ (UNMIC-407) o difusión según técnica de CLSI. La sensibilidad a fosfomicina fue probada por difusión con discos de 50 µg e interpretada según puntos de corte sugeridos por ANLIS-Malbrán (2019).

Resultados: Se analizaron 156 aislamientos correspondientes a 132 pacientes. La mediana de edad fue de 71 años (19-96), siendo un 71% (94/132) mayores de 60 años, y predominando el género femenino (75%; 99/132). Las muestras de orina fueron obtenidas por micción media en un 87% (136/156), y las restantes correspondieron a pacientes con instrumentación de vía urinaria. Los aislamientos correspondieron a *Escherichia coli* en un 87% (135/156) y a *Klebsiella pneumoniae* en un 13% (21/156); del total solo fueron sensibles a trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) un 28% (44/156) y un 13% (21/156) a ciprofloxacina. En cuanto a nitrofurantoína un 87% (135/156) fueron sensibles, observándose diferencias significativas entre los microorganismos (*E. coli*95% (128/135) vs *K. pneumoniae* 38% (8/21), $p<0.05$). Se evaluó fosfomicina en 97 aislamientos, resultando una sensibilidad *in vitro* global del 96%. Solo se observaron diferencias significativas entre grupos etarios con respecto a la sensibilidad a ciprofloxacina (menores de 60 años 26% (12/46) vs 8% (9/110) en mayores; $p<0.05$).

Conclusiones: Se observó un elevado nivel de resistencia a los antibióticos ciprofloxacina y TMS, de administración por vía oral, lo que limita su uso terapéutico. Fosfomicina y nitrofurantoína demostraron una muy buena actividad *in vitro* frente a los aislamientos de enterobacterias productoras de BLEE, especialmente en el microorganismo más prevalente, *Escherichia coli*. Estos datos avalan la utilización de estos antibióticos de forma empírica en aquellos pacientes con antecedentes de este tipo de aislamientos o falla terapéutica previa.

JU 006

0466 - ACTIVIDAD IN VITRO DE CEFTAZIDIMA/AVIBACTAM EN AISLADOS PRODUTORES DE CARBAPENEMASAS

SERRUTO, Gisela Ines | WISNER, Barbara | MAINETTI, Paula | ZARACHO, Juan | ZARATE, Mariela

SANATORIO GUEMES

Introducción y Objetivos: Las infecciones causadas por patógenos multirresistentes estan asociadas con incremento de la morbi-mortalidad. Ceftazidima/avibactam (CZA) ha sido autorizado para el tratamiento de las infecciones intraabdominales complicadas , infecciones del tracto urinario complicadas (ITUc) incluyendo la pielonefritis, de la neumonía nosocomial incluyendo la neumonía asociada a ventilación mecánica y para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias Gram negativas aerobias en pacientes con opciones de tratamiento limitadas. CZA inhibe las betalactamasas Ambler clase A (incluyendo las betalactamasas de espectro extendido, BLEE) y carbapenemasas (KPC), las de clase C (AMPc) y algunas betalactamasas de clase D como la OXA-48. CZA no inhibe enzimas clase B (metalo- betalactamasa) ni muchas enzimas clase D. OBJETIVOS: 1- Evaluar la actividad in vitro de CZA frente a aislados productores de carbapenemasas obtenidos de materiales clínicos. 2- Evaluar datos demográficos y los sitios de aislamiento. 3- Comparar la actividad in vitro de CZA con las de otros antimicrobianos de uso frecuente.

Materiales y Métodos: Se incluyeron 82 aislados de enterobacterias productoras de carbapenemasas. Los aislados productores de carbapenemasa tipo metalobetalactamasas fueron excluidos del estudio. La

identificación bacteriana se realizó mediante sistema automatizado Phoenix (BD) y/o MALDI-TOF (Bruker). La sensibilidad a ceftazidima-avibactam (CZA), ciprofloxacina (CIP), ceftazidima (CAZ), cefepime (CFP), piperacilina-tazobactam (PTZ), amikacina(AKN), gentamicina (GEN), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), ertapenem (ERT) y colistin (COL) se determinó; mediante sistema automatizado Phoenix (BD) y/o difusión con discos. La búsqueda fenotípica de carbapenemasas se realizó mediante sinergia entre discos de carbapenemes con ácido boronico y EDTA y se realizó la metodología Blue carba kit (BC) (ROSCO). La CIM a CZA se determinó mediante tiras de gradiente (Liofilchem). Los resultados se interpretaron según criterios CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute).

Resultados: Se estudiaron 82 aislados (urocultivos 29, hemocultivos y retrocultivos 26, liquidos de puncion 13, biopsias 8, muestras respiratorias 5 y cateter 1). La mediana de edad de los pacientes fue de 70 años, 39 femeninos y 43 masculinos. Se aislaron 77 *Klebsiella pneumoniae*, 1*Klebsiella oxytoca*, 2*Escherichia coli*, 1 *Enterobacter cloacae* y 1 *Serratia marcescens*. El porcentaje de sensibilidad frente a CZA, CIP, CAZ, CFP, PTZ, AKN, GEN, TMS, ERT Y COL fue de 100, 7, 0, 0, 0, 84, 48, 13, 0 Y 63 %. La CIM_{90} de meropenem fue de 32 ug/ml (rango 1 - >32). La CIM_{90} de CZA fue 2.0 µg/ml y la CIM_{50} fue de 1 ug/ml (rango <0.12-6 µg/ml).

Conclusiones: Se observó alta actividad de CZA frente a enterobacterias productoras de carbapenemasas. CZA es significativamente más activo que todos los antimicrobianos evaluados lo que lo convierte en una única opción terapéutica en aquellas cepas pan-resistentes.

JU 007

0471 - DESEMPEÑO DE UN MÉTODO COLORIMÉTRICO COMERCIAL (RAPIDEC) PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE CARBAPENEMASAS CONTEMPORÁNEAS DE ARGENTINA

PASTERAN, Fernando | **MENOCAL, Alejandra** | DE BELDER, Denise | DANZE, Diego | ALBORNOZ, Ezequiel | LUCERO, Celeste | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INEI, ANLIS "MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: La detección de rápida carbapenemasas es de importancia para guiar la elección del tratamiento antimicrobiano y la instauración de medidas de contención. Diversos métodos colorimétricos, como Carba NP, que utilizan una solución acuosa de carbapenem e indicador de pH, han sido desarrollados para la detección rápida de carbapenemasas con buen desempeño. Sin embargo, estos métodos requieren de instrumental específico para su preparación. Recientemente, estos métodos se encuentran disponibles en formatos comerciales. Objetivo: evaluar el desempeño de un ensayo colorimétrico comercial (RAPIDEC) para la detección rápida de carbapenemasas.

Materiales y Métodos: Para el estudio de validación, se utilizó un panel de cepas resistentes a carbapenem cuyos mecanismos de resistencia fueron caracterizados por PCR/secuenciación. Los aislamientos fueron identificados mediante maldi-tof. Se incluyeron 101 aislamientos (n): Enterobacterales (82), Pseudomonas [11] y Acinetobacter [8]. El panel constó de 75 productores de carbapenemasas: 24 de clase A-CAC (21 KPC, 1 Sme, 1 GES-3, 1 IMI), 35 de clase B-CBC- (24 NDM, 1 IMP-1, 2 IMP-8, 2 IMP-13, 2 IMP-16, 1 VIM-1, 3 VIM-2) y 18 de clase D-CDC- [10 de subfamilia OXA-48 (5 OXA-48, 2 OXA-181, 2 OXA-232, 1 OXA-244); 6 de subfamilia OXA-163 (5 OXA-163, 1 OXA-247); 3 OXAs típicas de Acinetobacter (OXA-23, OXA-58 y OXA-143)]. Se incluyeron 26 controles negativos: 13 CTX-M y 13 hiper-productores de AmpC. RAPIDEC fue realizado e interpretado según instrucciones del fabricante. En paralelo, se evaluó un método colorimétrico basado en el mismo principio, previamente desarrollado y validado en el LNR, CARBA-NP Direct (CNP-d). Dos operadores independientes interpretaron los resultados. Se consideró positivo la decoloración del color rojo hacia el naranja o amarillo. Se calculó la sensibilidad (SN) y especificidad (ES) para la detección de carbapenemasas. Se consideraron significativos cuando los valores calculados presentaron p menor de 0,05 (T de Fisher).

Resultados: La SN de RAPIDEC fue del 88% vs 91% del CNP-d (p>0.05). Los resultados falsos negativos de RAPIDEC incluyeron 2 CAC (1 Sme, 1 IMI) y 7 CDC (1 OXA-48, 1 OXA-181, 5 OXA-163). Todos ellos, a excepción de las 2 CAC, presentaron también resultado falso negativo con CNP-d. Todas las KPC o MBL mostraron resultado positivo con ambos métodos. El tiempo medio de detección fue: de 15 min para CAC, 90 min para CBC y 120 min para CDC, sin diferencias significativas con CNP-d. Se observó un resultado falso positivo, solo por RAPIDEC (SP 96% vs 100% de CNP-d, p>0.05).

Conclusiones: RAPIDEC presentó un desempeño óptimo para evaluar KPC y CBC. El rendimiento para detectar CDC, en particular OXA-163, resultó en concordancia con el demostrado por otras técnicas similares. Se recomienda que frente a un resultado negativo se confirme la presencia de carbapenemasas mediante otra metodología. RAPIDEC podría representar una estrategia de diagnóstico rápido de carbapenemasas en los laboratorios clínicos.

JU 008

0542 - EMERGENCIA DE OXA-370, UNA VARIANTE DE LA CARBAPENEMASA OXA-48, EN UN AISLAMIENTO CLÍNICO DEL COMPLEJO *ENTEROBACTER CLOACAE* EN ARGENTINA

ANDRES, Patricia Olga [1] | RODRÍGUEZ, Ana[1] | ALBORNOZ, Ezequiel[2] | RAPOPORT, Melina[2] | SAA, Gladys[3] | PASTERAN, Fernando[2] | CORSO, Alejandra[2] | FERNANDEZ, Analia[1]

MICROBIOLOGÍA, LABORATORIO CENTRAL, HOSPITAL UNIVERSITARIO FUNDACIÓN FAVALORO [1]; SERVICIO ANTIMICROBIANOS, DPTO. BACTERIOLOGÍA, INEI-ANLIS DR. CARLOS G. MALBRÁN [2]; TRASPLANTE DE MÉDULA PEDIÁTRICO, HOSPITAL UNIVERSITARIO FUNDACIÓN FAVALORO [3]

Introducción: En 2011 se reportó en Argentina por 1ra. vez OXA-163, una variante de la carbapenemasa de Clase D OXA-48. A la fecha, se detectaron en el país diferentes variantes de OXA-48 con actividad variable sobre cefalosporinas de 3ra.G (C3G) y carbapenemes: OXA-181, OXA-232, OXA-247, OXA-438, OXA-567 y OXA-788. La detección fenotípica de estas enzimas es un desafío para el laboratorio de microbiología por no presentar un inhibidor específico y por su débil actividad carbapenemasa. OXA-370 fue descripta en Brasil en *Enterobacter hormaechei* y en *Klebsiella pneumoniae*. Esta enzima fue posteriormente introducida en Chile a partir de un paciente previamente hospitalizado en Río de Janeiro, Brasil.

Caso Clínico: Paciente de sexo masculino, 13 años, que ingresó el 19/03/19 para acondicionamiento y trasplante de médula ósea alogénico no relacionado (TMO). El cultivo de vigilancia perianal (VPA) de ingreso fue negativo para bacterias multirresistentes. El 25/03 se realizó un nuevo cultivo de VPA aislándose una enterobacteria productora de carbapenemasa (EPC). El TMO se realizó el 26/03. El 31/03 se aisló de orina una EPC con el mismo fenotipo que la enterobacteria recuperada en la VPA y se interpretó como infección urinaria. El aislamiento fue identificado como complejo *Enterobacter cloacae* por el sistema Vitek 2 (BioMerieux©) y confirmado por MALDI-TOF MS (Bruker©) como *E. cloacae* (ECL) (score 2.414). ECL presentó resistencia a las C3G, cefepime (FEP), piperacilina-tazobactam (TAZ), gentamicina, ciprofloxacina, nitrofurantoína, fosfomicina y trimetoprima/sulfametoxazol, y sensibilidad a amicacina (AKN), colistina (predifusión), tigeciclina y ceftacidima/avibactam. La CIM, por Vitek 2, de imipenem fue 2 mg/l y de meropenem (MEM) 1 mg/l. Presentó, además, fenotipo de BLEE, test de Blue Carba positivo y ausencia de sinergia entre los carbapenemes y EDTA o ácido borónico. El Resist-3 OOK K-set (Britania©) fue positivo para OXA-48. Por PCR y secuenciación se confirmó la presencia de los genes bla_{OxA370} y $bla_{CTxM1/15}$. El paciente recibió tratamiento con FEP y AKN con evolución favorable pero con persistencia de colonización perianal. El paciente reporta internación previa en febrero de 2019 por neumonitis en otro Centro de Salud, sin hallazgo de germen, donde recibió tratamientos parciales con TAZ y MEM. No refiere historia previa de viajes al exterior en los últimos meses.

Conclusiones: Este es el primer reporte de ECL OXA-370 en Argentina. No se detectó nexo epidemiológico con países con previo reporte de esta enzima. Serían necesarios estudios para evaluar y comparar la plataforma genética de bla_{OxA370} con otros aislamientos de Latinoamérica. A diferencia de lo que ocurre con la mayoría de las cepas productoras de OXA-163, en este caso la prueba de Blue Carba resultó positiva, facilitando su detección en los laboratorios clínicos.

JU 009

0482 - ACIDO USNICO Y SU SINERGISMO CON SAPONINAS DE LÚPULO: NUEVO ROL EN EL CONTROL DE *PAENIBACILLUS LARVAE*, AGENTE CAUSAL DE LA ENFERMEDAD LOQUE AMERICANA EN ABEJAS

GIMENEZ MARTINEZ, Pablo [1] | RAMIREZ, Cristina[2] | IGLESIAS, Azucena[1] | FUENTES, Giselle[3] | ACOSTA, Ramiro[4] | FANOVICH, Maria Alejandra[5] | MAGGI, Matias[1] | FUSELLI, Sandra[6]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN PRODUCCIÓN, SANIDAD Y AMBIENTE / CONICET [1]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA Y BIOQUÍMICA, FCEYN, UNMDP [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN PRODUCCIÓN, SANIDAD Y AMBIENTE [3]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES [4]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES [5]; COMISIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES [6]

Introducción y Objetivos: El ácido úsnico es uno de los metabolitos secundarios presentes en los líquenes que aportan protección frente a diversos microorganismos, siendo comúnmente utilizado en la industria farmacéutica por su conocida bioactividad. En la apicultura el uso indiscriminado de antibióticos de síntesis para controlar la patología Loque Americana, producida por la bacteria Gram positiva *Paenibacillus larvae* ha generado la aparición de cepas resistentes como la presencia de residuos en los productos comerciales de la colmena. Por consiguiente, los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Determinar la acción bactericida del ácido úsnico frente a dos cepas de *P. larvae*, 2) Evaluar el sinergismo entre el ácido úsnico y extractos de saponinas y 3) Comprobar su toxicidad frente a *Apis mellifera*.

Materiales y Métodos: El ácido úsnico marca Sigma-Aldrich fue empleado para nuestros estudios. Los extractos de saponinas utilizados correspondieron a 3 variedades de hojas de *H. lupulus* (Cascade, Victoria y Spalt), secados y retomados con cloroformo. La cuantificación de saponinas se llevó a cabo mediante la reacción de Liebermann- Burchard y una variante de la reacción de Salkowski, expresada como mg de saponina por gramo de peso de droga para las hojas secas de las tres variedades. Para evaluar el sinergismo se utilizó la técnica de difusión en agar y para la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se empleó la técnica de microdilución en caldo. Se prepararon dos soluciones stock de ácido úsnico con el disolvente Dimetil sulfoxido de 150 y 100 µg/mL, las concentraciones que se probaron frente a dichas cepas fueron desde los 4.17 hasta los 50 µg/mL. A fin de evaluar la toxicidad de la CIM obtenida frente a *A. mellifera* se realizaron dos

ensayos: 1) se aplicó la concentración obtenida en el alimento de las larvas y 2) en las abejas adultas se aplicó la solución en el "Candy" (mezcla de azúcar impalpable y agua), para ambos ensayos se registró la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas.

Resultados: La CIM obtenida, mediante la técnica de microdilución en caldo, para las dos cepas de P. larvae fue de 16.67 µg/mL. Cuando se analizó el sinergismo entre los extractos de saponinas y el ácido úsnico, las CIM determinadas fueron considerablemente menores para las tres combinaciones ensayadas, correspondiendo a 0.079, 0.492 y 3.465 µg/mL, para las 3 variedades de *H. lupulus* (Cascade, Victoria y Spalt), respectivamente.

Conclusiones: Los ensayos de toxicidad demostraron que el ácido usnico no es tóxico frente a larvas e individuos adultos de *A. mellifera*. El ácido úsnico es un promisorio agente antimicrobiano natural para combatir la enfermedad Loque Americana, y conjuntamente, la utilización de saponinas aporta sinergismo en su actividad antimicrobiana. La utilización de estos compuestos evitaría las problemáticas ocasionadas por los productos de síntesis.

JU 010

0488 - EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A CARBAPENEMES EN ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE HEMOCULTIVOS EN UN HOSPITAL PEDIÁTRICO DE TERCER NIVEL

GARCIA, María Eva | MASTROIANNI, Alejandra | PEREZ, Guadalupe | TAICZ, Moira | RUVINSKY, Silvina | HERNANDEZ, Claudia | REIJTMAN, Vanesa

HOSPITAL DE PEDIATRIA S.A.M.I.C. "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN"

Introducción y Objetivos: La adquisición de mecanismos de resistencia a carbapenemes (MRC) en enterobacterias (EB) limita las opciones terapéuticas y se asocia a mayor morbi-mortalidad. Conocer su epidemiología a nivel local provee información importante para tratamientos empíricos. Los objetivos fueron: describir la evolución de los MRC en EB aisladas de hemocultivos (HC) en un hospital pediátrico de tercer nivel; describir las características clínicas y demográficas de los pacientes con dichos aislamientos.

Materiales y Métodos: Estudio retrospectivo, analítico, observacional. Entre ene-2015 y abr-2019. Se incluyeron todas las EB resistentes a carbapenemes (ERC) aisladas de HC de pacientes internados en un hospital pediátrico de tercer nivel. La tipificación se realizó por MALDITOF-MS, la sensibilidad por difusión y métodos automatizados. El MRC se determinó por métodos fenotípicos y moleculares. Se revisaron de las historias clínicas de los pacientes. Las variables cualitativas se describieron en porcentaje y las cuantitativas en mediana y rango intercuartilo (RIC). Se usó Stata13.

Resultados: De las 976 EB recuperadas de HC, 47 (4,8%) fueron ERC, aisladas de 41 pacientes. El 51,2% fueron varones; mediana de edad: 36 meses (RIC:11-69); 36,6% presentaron internación previa en otro hospital. Mediana de días de internación previa: 35 (RIC:13-68); colonización conocida por ERC: 61,7%; 87,2% portaba catéter; 29,8% tuvo cirugía 30 días antes; 91,5% había recibido meropenem (MER) previamente. El 97,6% tenía enfermedad de base: trasplante (Tx) órgano sólido (29,3%), leucemia (22,0%), otras inmunodeficiencias (17,0%), otros trastornos congénitos (12,2%), tumores sólidos (9,8%), neonatos (4,9%), Tx médula ósea (2,4%). Mortalidad a 30 días: 17,1%. En todo el periodo el MRC más frecuente fue KPC (74,5%) seguido de OXA (12,8%), NDM (10,6%) y BLEE+impermeabilidad (2,1%). Por año los MRC fueron (%): 2015 KPC (3,8); 2016 KPC (4,2); 2017 KPC (2,3) y OXA (0,9); 2018 KPC (2,3), OXA (0,9), NDM (0,9) y BLEE+impermeabilidad (0,5); 1º cuatrimestre 2019 KPC (8,0), OXA (2,7) y NDM (4,0). Hubo un aumento estadisticamente significativo de ERC en 2019 respecto de los años previos (p=0.03). En 2015 y 2016 todas las ERC fueron *K.pneumoniae*, luego se observó un aumento de la diversidad de géneros de ERC (*Citrobacter spp*, *Serratia spp*, *Enterobacter spp*, *E.coli*). La CIM50 de MER fue >=32µg/ml y tenía CIM <=8µg/ml el 29,5%. La sensibilidad global a colistin, fosfomicina, tigeciclina y amikacina fue (%): 74, 67, 86 y 43 respectivamente. La sensibilidad a tigeciclina fue 90% en KPC y 100% en NDM.

Conclusiones: En todos los años predominó *K. pneumoniae* KPC. A partir de 2018 se observó un aumento en cantidad y diversidad de géneros de ERC. En el primer cuatrimestre de 2019 el aumento de ERC fue estadísticamente significativo. Todos los pacientes tenían internación prolongada previa; la mayoría tenía enfermedad de base y había recibido MER previamente. Más del 50% tenía portación de ERC previa a la bacteriemia. Resaltamos el impacto de los MRC y la importancia de su continua vigilancia.

JU 011

0512 - DESARROLLO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS DE EUDRAGIT PARA LA VEHICULIZACIÓN DE TOBRAMICINA Y RESVERATROL COMO AGENTES POTENCIADORES DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

TOLEDO, Constanza[1] | GAMBARO, Rocío C.[2] | CHAIN, Cecilia Y.[3] | VELA, María E.[3] | CASTRO, Guillermo R.[1] | **ISLAN, German** [1]

LABORATORIO DE NANOBIOMATERIALES, CINDEFI, UNLP-CONICET, CCT LA PLATA [1]; INSTITUTO DE GENÉTICA VETERINARIA (IGEVET, UNLP-CONICET LA PLATA), FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FISICOQUÍMICAS TEÓRICAS Y APLICADAS (CONICET-UNLP) [3]

Introducción y Objetivos: En la actualidad, la aparición de microorganismos multirresistentes a diversos antibióticos ha despertado el alerta de encontrar potenciales soluciones de forma inmediata. En los últimos años, el uso de nanopartículas (NPs) como vehículos para mejorar y potenciar el transporte de fármacos con diferentes actividades ha demostrado ser una herramienta prometedora para mejorar las terapias convencionales. En el presente trabajo, Tobramicina (Tobra, antibiótico aminoglucósido de amplio espectro) ha sido vehiculizada en NPs de Eudragit (EU), polímero derivado del acrilato, para el tratamiento de infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno recurrente en fibrosis quística o enfermedades pulmonares crónicas. Por otra parte, se pretende nanoencapsular resveratrol (RSV), un compuesto con propiedades antioxidantes perteneciente a la familia de los estilbenoides, producido por varias plantas como respuesta al ataque de ciertos patógenos. Los objetivos del presente trabajo son la síntesis de NPs de EU con una composición química apropiada (S100 o NE30D) para la encapsulación de Tobra y RSV, evaluar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de la Tobra en su forma libre y vehiculizada en NPs y en presencia de NPs de RSV contra *P. aeruginosa* y evaluar la hemotoxicidad de las formulaciones en el rango de concentraciones estudiado.

Materiales y Métodos: Se desarrollaron nanopartículas de EU mediante el método de nano-precipitación para la encapsulación de Tobra y RSV estabilizadas por Pluronic F68 (1.0 %, p/v). Se determinó la eficiencia de encapsulación (EE) y se realizó la determinación de la CIM en *P. aeruginosa* ATCC 27853 de acuerdo a las normas establecidas por el "clinical and laboratory standard institute". Por último, se evaluó la hemotoxicidad in vitro en muestras de sangre humana por método espectrofotométrico.

Resultados: Se obtuvieron NPs de EU S100 con una EE de Tobra del 83.3 ±8.5%, y NPs de EU NE30D con una EE del 100% para RSV. Tobra libre presentó una CIM para *P. aeruginosa* de 0.53 ±0.00 µg/ml mientras que Tobra encapsulada en NPs de EU mostró una mayor efectividad con una CIM de 0.22 ±0.08 µg/ml (40% menor). Un efecto aún mayor se observó cuando la Tobra vehiculizada se combinó con NPs de Eu con RSV, observándose una CIM de 0.13 ±0.00 µg/ml, al menos 4 veces menor que Tobra libre. Finalmente, se corroboró que las NPs no generaron hemotoxicidad en el orden de los valores de CIM encontrados.

Conclusiones: Se desarrollaron exitosamente dos tipos de nanopartículas basadas en el uso de polímeros de EU. Se logró una potenciación de la actividad antimicrobiana de Tobra por el efecto de la nano-encapsulación en NPs de EU S100 y mediante la acción conjunta con NPs de NE30D conteniendo RSV, en un rango de concentraciones que no resultaría tóxico en sangre humana. Los resultados obtenidos muestran un gran potencial para mejorar la efectividad de los antibióticos convencionales.

JU 012

0513 - EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DEL COMPLEJO VANADIO-ÁCIDO NALIDÍXICO Y POTENCIACIÓN DE SU ACTIVIDAD MEDIANTE NANOENCAPSULACIÓN

BUELONI, Bárbara[1] | LEÓN, Ignacio E.[2] | CASTRO, Guillermo R.[1] | **ISLAN, German** [1]

LABORATORIO DE NANOBIOMATERIALES, CINDEFI, UNLP-CONICET, CCT LA PLATA [1]; CENTRO DE QUÍMICA INORGÁNICA (CEQUINOR, UNLP-CONICET, CCT LA PLATA) [2]

Introducción y Objetivos: En el campo de la Química Medicinal, el diseño racional de nuevos agentes terapéuticos basados en compuestos metálicos (Metalofármaco, MF) con actividades farmacológicas diversas ha abierto la puerta a nuevas terapias antimicrobianas. Por su parte, en los últimos años el uso de nanopartículas ha resultado ser una herramienta fundamental para vehiculizar compuestos con problemas de solubilidad en condiciones fisiológicas. El objetivo del presente trabajo, es evaluar la actividad antimicrobiana de un novedoso MF cuyo núcleo está compuesto por vanadio y ligado por moléculas de ácido nalidíxico (un antibiótico de amplio espectro) en cepas de diferente espectro (Gram positivas y negativas). A su vez, se pretende encapsular el MF en nanopartículas sólidas de base lipídica (NSL) a fin de mejorar sus limitaciones de solubilidad y evaluar la actividad antimicrobiana, así como su incidencia en el quórum sensing (QS) de ciertas especies.

Materiales y Métodos: Se realizó la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) del ligando (ácido nalidíxico) y del MF en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 de acuerdo a las normas establecidas por el "clinical and laboratory standard institute". Se desarrollaron NSL mediante el método de ultra-sonicación y se determinó la eficiencia de encapsulación (EE) del MF y la CIM correspondiente. Por último, se evaluó la inhibición del QS por parte de las NSL-ML mediante la inhibición de la producción del pigmento típico de *Chromobacterium violaceum* CCT 3496 en placas de agar nutritivo.

Resultados: Se observó una marcada disminución de la CIM por parte del MF con respecto al ligando. En *P. aeruginosa* se observó una CIM de 1250.0 µM y 625.9 µM para el ligando y MF respectivamente, mientras que en *S. aureus* se obtuvo una CIM de 250 µM y 125 µM para cada compuesto. Por su parte, fue posible desarrollar NSL con una EE del MF del 97.0 ± 0.9% y un tamaño cercano a las 330 nm. La evaluación de la actividad antimicrobiana mostró un valor de CIM de 129.9 µM para ambas cepas, lo cual representa para el

caso de *P. aeruginosa* una disminución de casi 5 veces el valor de CIM del MF libre. Finalmente, se observó que las NSL conteniendo el MF eran capaces de interferir en el QS de *Chromobacterium violaceum*, al verse una disminución dosis-dependiente de la producción de violasceína a concentraciones sub-inhibitorias.

Conclusiones: En el presente trabajo, se demostró la efectividad del MF de vanadio-ácido nalidíxico respecto del ligando libre en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. A su vez, se demostró la eficacia de las NSL para vehiculizar el MF, obteniéndose en el caso de *P. aeruginosa* una CIM cerca de 5 veces menor que el MF libre. Los resultados sugieren que la síntesis de nuevos metalofármacos y su nano-encapsulación poseen potencial aplicación para el desarrollo de nuevas herramientas para mejorar la efectividad de los tratamientos asociados con infecciones bacterianas.

JU 013

0609 - *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* (PAE): PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, RED WHONET - ARGENTINA

DANZE, Diego | PASTERAN, Fernando | MENOCAL, Alejandra | LUCERO, Celeste | ALBORNOZ, Ezequiel | DE MENDIETA, Juan Manuel | WHONET-ARGENTINA, Red Nacional de Vigilancia | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INEI, ANLIS "MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Pae es uno de los principales microorganismos causantes de infecciones intrahospitalarias. En 2017, la Organización Mundial de la Salud incluye a Pae resistente a carbapenemes en la lista de patógenos de prioridad crítica para la investigación y desarrollo de nuevos ATM. En el año 2005 se identificó en Argentina al primer aislamiento portador de carbapenemasa (VIM) y en el año 2018 se identificó a la primer Pae panresistente. Objetivo: Reportar el perfil de sensibilidad a los ATM en aislamientos de Pae provenientes de infecciones intrahospitalarias de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET- Argentina en el período 2010-2017.

Materiales y Métodos: Se analizaron 21892 aislamientos de Pae recuperados de episodios de infeccion (1 por paciente), de 89 instituciones de salud distribuidas en 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM de todo el periodo se evaluó por el método de difusión con discos y/o automatizados e interpretó según CLSI 2019. Colistín (COL) se interpretó según EUCAST y LNR. Los datos se analizaron con el software WHONET5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (NS) (%I+%R). En paralelo, se analizaron 183 aislamientos de Pae portadoras de carbapenemasas (CBP) derivadas al LNR por 27 instituciones de la Red para la caracterizacion molecular de las beta-lactamasas por PCR.

Resultados: Entre 2010-2017 se analizaron 21892 Pae: 38,9% materiales respiratorios (RESPI); 20,9% orinas (URO); 12,0% piel y partes blandas; 11,5% sangre (SAN) y 16,6% otros. Comparando 2010-2011 vs 2016-2017, se encontró disminución significativa (test F, p<=0,05) en los %NS en: amikacina (AMK) (23,4 vs 17,3), gentamicina (GEN) (35,2 vs 26,5), ciprofloxacina (CIP) (37,2 vs 31,2), meropenem (MEM) (31,7 vs 29,3), piperacilina/tazobactam (PTZ) (31,4 vs 28,1) y COL (4,5 vs 2,8), sin cambios para: ceftazidima (CAZ) (22), cefepime (FEP) (22,8), e imipenem (IMI) (27,0). Se observó en todo el periodo una mayor NS en las muestras de URO respecto a las de SAN-RESPI para AMK (24,5 vs 18,2); CIP (39,4 vs 33); FEP (26,7 vs 22,3); GEN (35,9 vs 28,2); MEM (34,3 vs 31,8) y PTZ (33,5 vs 29,4). La excepción fue IMI donde las cepas de SAN (29.5) y RESPI (28,4) superaron en NS a las de URO (26,9). No hubo diferencias en la NS entre los aislamientos de SAN vs RESPI. En 2010-2017 el LNR analizó 183 Pae CBP: 55,2% VIM; 27,3% IMP; 12% KPC y 5,5% SPM.

Conclusiones: La NS a los ATM en Pae ha disminuido en los últimos años para AMK, CIP, GEN, MERO, PTZ y COL. AMK y COL fueron los ATM más activos, seguido de CAZ que fue el betalactámico con mayor actividad. En este escenario epidemiológico, se observaron mayores %NS en aislamientos provenientes de URO en comparación con los provenientes de muestras de SAN y RESPI, a excepcion del IMI. La carga de CBP en Pae en la Argentina se mantuvo < 1% en todo el período, sin embargo la no sensibilidad a los carbapenemes es cercana al 30%.

JU 014

0548 - COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DE AISLAMIENTOS DE *NEISSERIA GONORRHOEAE* CON ALTA Y BAJA RESISTENCIA A AZITROMICINA EN ARGENTINA

GIANECINI, Ricardo Ariel [1] | CAMPOS, Josefina[2] | POKLEPOVICH, Tomas[2] | OVIEDO, Claudia[1] | CRISTALDO, Paula[1] | GONZALEZ, Melisa[1] | CUENCA, Noelia[1] | PROVSAG, Arg[3] | GALARZA, Patricia[1]

SERVICIO DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL, INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; PLATAFORMA DE GENÓMICA Y BIOINFORMÁTICA, INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [2]; PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE GONOCOCO (PROVSAG) [3]

Introducción y Objetivos: Actualmente, la azitromicina (AZM) en combinación con una cefalosporina de espectro extendido (CEE) se recomienda como terapia empírica de primera línea para el tratamiento de la gonorrea. Sin embargo, la emergencia de aislamientos con baja (CIM: 2-8 µg/ml) y alta (CIM: >=256 µg/ml) resistencia a AZM, sumado a la presencia de aislamientos con resistencia acompañante a CEE, pone en riesgo la efectividad de esta estrategia de tratamiento. En Argentina, un aislamiento con elevada resistencia a azitromicina fue observado en el año 2001. Sin embargo, hasta el año 2018, aislamientos con elevada resistencia a azitromicina no han sido reportados en nuestro medio. El objetivo de este estudio es comparar las características moleculares de aislamientos de *N. gonorrhoeae* con baja y elevada resistencia a AZM.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 21 aislamientos de *N. gonorrhoeae* colectados por el PROVSAG en el periodo 2005–2016 (n=19, CIM: 2-16 µg/ml), y 2001 y 2018 (n=2, CIM: >=256 µg/ml). El estudio molecular se realizó a través de la secuenciación de genoma completo de todos los aislamientos con la plataforma Miseq (Illumina) usando la química V2. Se realizó el análisis bioinformático donde se estudiaron los principales determinantes de resistencia a AZM (*mtrR*, *ARNr* 23S), y genotipificación con NG-MAST y MLST de la secuencia.

Resultados: Aislamientos con baja resistencia a AZM fueron localizados en las provincias de Córdoba (42,1%; n=8), Buenos Aires (52,6%; n=10) y Santa Fe (5,3%; n=1). Sin embargo, ambos aislamientos con alta resistencia a azitromicina se localizaron en la provincia de Buenos Aires. El análisis molecular del *ARNr* 23S mostró la presencia de la mutación C2611T y A2059G en el 73,7% (14/19) y 100% (2/2) de los aislamientos con baja y alta resistencia a AZM, respectivamente. El gen *mtrR* reveló un cambio de aminoácido en la posición 45 (G—D) en el 42.8% (9/21) de los aislamientos, deleción de una adenina (A-) en la secuencia invertida del promotor en el 33,3% (7/21), G45G/A- en el 4,8% (1/21) y 9.5% (n=2) mostraron un alelo mosaico (*N. meningitidis*-like). El análisis de genotipificación mostró relaciones clonales entre aislamientos con baja y elevada resistencia a AZM. El NG-MAST ST696 y MLST ST1580 estuvo presente en el 28,6% (n=5, CIM 4 µg/ml; n=1, >=256 µg/ml) de los aislamientos. Además, dos aislamientos (n=1, CIM 2 µg/ml; n=1, CIM >=256 µg/ml) mostraron el MLST ST9363, y NG-MAST STs (8241 y 3935, respectivamente) con >=99% de identidad en las secuencias porB y tbpB.

Conclusiones: En Argentina, un aislamiento con alta resistencia a AZM es evidenciado después de 15 años. Los aislamientos reportados con baja y alta resistencia a AZM estuvieron circunscriptos a una acotada región geográfica de nuestro país. El estudio de epidemiología molecular mostró aislamientos con una alta relación clonal. Actualmente, en nuestro país se recomienda la utilización de AZM para el tratamiento de *C. trachomatis* y *M. genitalium*, aun ante la sospecha y sin confirmación en todos los casos. Los hallazgos obtenidos en este estudio sostienen la necesidad de fortalecer la vigilancia para la detección temprana de aislamientos resistentes y en consecuencia la elaboración de estrategias de salud pública para el control de la diseminación de estos aislamientos.

JU 015

0581 - ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS (CPE) EN EL HOSPITAL PROVINCIAL NEUQUÉN (HPN), HISTORIA Y SITUACIÓN ACTUAL. IMPORTANCIA DE LA BÚSQUEDA DE CARBAPENEMASAS TIPO OXA 48-LIKE

SCHINCHIRIMINI, Maria Martha | GONZALEZ, Gladys Nieves | NÚÑEZ, María Rosa

HOSPITAL PROVINCIAL NEUQUEN "DR. CASTRO RENDON"

Introducción y Objetivos: La prevalencia de las distintas CPE varía según las distintas regiones geográficas y las instituciones. El HPN es el hospital de máxima complejidad del Sistema de Salud de la provincia de Neuquén (243 camas).

Materiales y Métodos: Se estudiaron 1227 enterobacterias (Ent). Se utilizó Phoenix para identificación y sensibilidad, DCMBrit, sinergia con discos de Ácido Borónico y EDTA, Blue Carba, Tritón Hodge Test para la detección de carbapenemasas y biología molecular o inmunocromatografía para su confirmación.

Resultados: Ent productoras de KPC (EKPC). Se registraron los siguientes aislamientos: 2 *Klebsiella pneumoniae* (Kpn) 6 *Enterobacter cloacae* (Ecl) año 2016; 4 Kpn 4 Ecl 2 otras enterobacterias (OEnt) año 2017; 12 Kpn 1 Ecl 3 OEnt año 2018. El % de EKPC respecto al total de Ent en 2016 2017 y 2018 fue 1.7 2.6 y 4.3%, el % Kpn productora de KPC (KpnKPC) respecto al total de Kpn fue 1.6 5.2 y 14% respectivamente. EKPC se recuperan más frecuentemente de orina (OO) 39%, seguido de sangre (SA) 18% y líquido abdominal (AB) 15%.Los servicios con mayor número de aislamientos fueron Cínica Médica (CM) y Clínica Quirúrgica, seguidos por Terapia Intensiva (UTIA) e Intermedia de Adultos (UCIP). La R de KpnKPC a Colistín fue del 14%, y el 32% presentaron una CIM a MER <= 8 µg/ml. Ent productoras de OXA-48 like (EOXA). Se registraron los siguientes aislamientos: 3 Kpn 1 Ecl año 2016, 8 Kpn 7 Ecl 2 OEnt año 2017, 3 Kpn 3 Ecl año 2018. El % de EOXA con respecto al total de Ent en 2016 2017 y 2018 fue 0.85 4.3 y 1.6 % respectivamente. La S a Meropenem (MER) e Imipenem (IMP) fue del 80 y 84%. Todas las cepas presentaron resistencia a Piperacilina Tazobactam y Ertapenem. EOXA se recuperan más frecuentemente de piel y partes blandas (PyPB) 30%, seguido de OO 18%, materiales respiratorios 16 %, AB 16 %, SA 9%.Los servicios con mayor número de aislamientos fueron UTIA, Traumatología y CM.

Conclusiones: Las CPE surgieron en el HPN a fines del año 2015. Su % ha sufrido un incremento en forma continua, con un gran dinamismo en los tipos de carbapenemasas y las especies que lo portan. En el 2016 la CPE más prevalente fue Ecl KPC. En el 2017 EOXA fueron más prevalente que EKPC, siendo Kpn y Ecl las principales portadoras. En el 2018 Kpn Kpc es la predominante. Con respecto a EOXA, es importante sospechar su presencia según algoritmos del Servicio de Antimicrobianos del Malbrán, debido a la sensibilidad in vitro a IMI y MER. Un dato importante es que EOXA se recuperanon principalmente de partes blandas. La detección de CPE constituye un desafío para los laboratorios clínicos y es de vital importancia para el tratamiento y la prevención de las infecciones.

JU 016

0645 - *STREPTOCOCCUS* ß HEMOLITICO GRUPO A Y GRUPO B: PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS,RED WHONET- ARGENTINA.

CERIANA, Paola | LUCERO, Celeste | MENOCAL, Alejandra | TUDURI, Ezequiel | DE MENDIETA, Juan Manuel | PASTERAN, Fernando | RED NACIONAL DE VIGILANCIA, Whonet Argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: *STREPTOCOCCUS* ß-hemolítico Grupo A (SGA) es el agente etiológico más frecuente de faringitis bacteriana. También produce enfermedades graves como fascitis necrotizante y síndrome de shock tóxico. *STREPTOCOCCUS* ß-hemolítico Grupo B (SGB) es causa de sepsis neonatal y en adultos de infecciones del tracto urinario, piel y partes blandas, abscesos. Los antimicrobianos (ATM) de elección para el tratamiento son penicilina (PEN) o ampicilina. Macrólidos, como eritromicina (ERY) y clindamicina (CLI), son alternativa en pacientes alérgicos a PEN. Existen dos mecanismos principales de resistencia a macrólidos: Metilasa, con fenotipo MLSb (resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B) y Eflujo, con fenotipo M (resistencia a macrólidos).

Materiales y Métodos: Se analizaron 13860 aislamientos de SGA y 6017 aislamientos de SGB, recuperados de episodios de infección (1 por paciente), de 89 instituciones de salud distribuidas en 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM de todo el período se evaluó por el método de difusión con discos y/o automatizados e interpretó según CLSI 2018. Los datos se analizaron con el software WHONET5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (NS) (%I+%R). Los cambios de %NS se consideraron significativos cuando $p<0,05$ (Test de Fischer).

Resultados: Se analizaron 13860 aislamientos de SGA provenientes de muestras de faringe (93,7%), piel y partes blandas (2,3%), sangre (1,1%), muestras ginecológicas (1%) y 1,9 % otras. El 82% correspondieron a pacientes entre 1 y 20 años. Todos los aislamientos fueron sensibles a PEN. Al comparar los periodos 2010-2011(n: 5420) vs 2016-2017 (n:2517), se observó aumento en %NS: ERY (2,5% vs 4,6%) p=0.0015, CLI: (1,2% vs 2,5%), p=<0.0001 y levofloxacina (LEV): (0,3% vs 1,15%), p =0.014. El fenotipo M de resistencia a macrólidos predominó en el periodo estudiado (55,2%). La distribución de muestras de los 6017 aislamientos de SGB analizados fue: orina (50%), muestras ginecológicas (39%), piel y partes blandas (4%), sangre (2%) y 5 % otras. El 67% de las muestras correspondieron a < 40 años. Cuando se compararon los periodos 2010-2011 vs 2016-2017 se observó aumento en %NS para ERY (16,2% vs 19,2%) p =0.04 y LEV: (5,9% vs 8,5%) p=0.0117, sin cambios significativos para CLIN (13,1% vs 14,5%) y con predominio del fenotipo MLSb (69,3%).

Conclusiones: SGA y SGB permanecen sensibles a penicilina. La NS a macrólidos y LEV ha ido en aumento en los últimos años tanto en SGA como en SGB, posiblemente debido al incremento en el uso de estos antimicrobianos en la comunidad. La NS a estas drogas fue mayor en SGB respecto de SGA. Es fundamental garantizar la vigilancia continua con el fin de optimizar el tratamiento de las infecciones causadas por estos microorganismos.

JU 017

0650 - SINTESIS DE N-FENILBENZAMIDAS Y ANALOGOS COMO POTENCIALES FUNGICIDAS

SAGRERA, Gabriel [1] | BELLOQUI, Gabriel[2]

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA, FACULTAD DE QUIMICA [1]; DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA, FACULTAD DE QUIMICA [2]

Introducción y Objetivos: Los hongos fitopatógenos causan una serie de enfermedades en distintas etapas de la vida de las plantas. Además causan la podredumbre o manchado de distintos productos vegetales, ocasionando grandes pérdidas económicas. Según la FAO, más del 25% de las cosechas a nivel mundial se

pierden por ataques fúngicos. Actualmente existen diferentes clases de fungicidas con diferentes modos de acción: fenilamidas (inhibidores de la síntesis de ARN, metalaxil), heteroaromáticos (inhibidores de ADN, etridiazol), dinitroanilinas (inhibidores de la produccion de ATP, fluazinam), carbamatos (afectan la permeabilidad de la membrana, propamocarb), ciano-acetamida oximas (cimoxanil, modo de acción desconocido), "quinone outside inhibitors" y "quinone inside inhibitors" (inhibidores de la respiración en los "bolsillos" Qo y Qi , respectivamente, por ejemplo fenamidona y ciazofamida, respectivamente), benzamidas (inhibidores del ensamblaje de ß-tubulina, zoxamida), amidas de ácidos carboxílicos (que afectan el ensamblaje de la pared celular). Anualmente se aplican miles de toneladas de agroquímicos en todo el mundo. El uso excesivo de fungicidas provocó el desarrollo de cepas resistentes. Como consecuencia, se usan mayores cantidades para combatir el mismo hongo lo que causa un aumento de residuos tóxicos en los alimentos y el medio ambiente. Por otra parte algunas especies de hongos producen micotoxinas. En vista de estos problemas, es necesaria la búsqueda de nuevos compuestos, más seguros y efectivos. En el marco de nuestra investigación relacionada con la síntesis y evaluación biológica de compuestos organicos, hemos decidido realizar la sintesis de una serie de amidas de acidos benzoicos y analogos, para su posterior evaluación.

Materiales y Métodos: Las amidas se obtuvieron a partir de los correspondientes precursores (ácidos benzoicos y aminas). En primer término se transforman los ácidos benzoicos en los correspondientes cloruros de ácido, los cuales luego se hacen reaccionar con las aminas adecuadas. Los compuestos fueron purificados por recristalización o cromatografia en columna y caracterizados por resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masas (EM).

Resultados: En este trabajo se describe la síntesis de una pequeña biblioteca de amidas, del tipo PhA-CO-NH-PhB (donde PhA y PhB representan grupos fenilo sustituidos con diferentes grupos), algunas de ellas no descritas aún en la literatura. También se preparó una serie de amidas derivadas de ácidos cinámicos, de estructura general PhA-CH=CH-CO-NH-PhB.

Conclusiones: Se obtuvieron 30 compuestos, algunos de ellos no descritos aún en la literatura, con buenos rendimientos. Su actividad biológica será posteriormente evaluada contra un panel de hongos patógenos de vegetales, utilizando cepas de colección internacional.

JU 018

0655 - *SHIGELLA* SPP.: PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, RED WHONET - ARGENTINA.

LUCERO, Celeste | TUDURI, Ezequiel | MENOCAL, Alejandra | DE MENDIETA, Juan Mannuel | PASTERAN, Fernando | RED NAC. DE VIGILANCIA DE LA, Resistencia - Whonet Argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: *Shigella* sp. es el primer agente causal de diarreas en nuestro país. El género incluye cuatro especies: *S. flexneri* (SHF), S. boydii (SHB), S. sonnei (SHS) y S. dysenteriae (SHD) que pueden causar desde diarrea acuosa hasta disentería con gran morbilidad y mortalidad. El tratamiento antibiótico corta la cadena de transmisión, reduce los síntomas y es de importancia en los cuadros severos., por lo que conocer la sensibilidad a los antimicrobianos (ATM) es crucial para instaurar un tratamiento ATM adecuado. OBJETIVO: Reportar el perfil de sensibilidad a los ATM en aislamientos de *Shigella* spp. (SHI) provenientes de infecciones de la comunidad de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET- Argentina en el período 2010-2017.

Materiales y Métodos: Entre 2010-2017, se estudiaron aislamientos de SHI recuperados de episodios de infección (1 por paciente), de 89 instituciones de salud distribuidas en 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM de todo el período se evaluó en cada laboratorio por métodos de difusión con discos y/o automatizados y se interpretó según CLSI 2018 y fosfomicina (FOS) según normas del CASFM. Los aislamientos derivados al LNR se estudiaron por PCR. Los datos se analizaron con el software WHONET5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (%NS) (%I+%R). Los cambios en %NS se consideraron significativos cuando $p<0.05$ (Test de Fisher).

Resultados: Se estudiaron 17908 aislamientos de SHI: 13190 (73,7%) SHF, 4540 (25,4%) SHS, 152 (0,9%) SHB y 22 (0,2%) SHD. El 72.6% de los pacientes fueron menores de 10 años (0-97 años). 98.6% fueron muestras de heces y 1,4% otros. Los promedios de %NS para SHF en todo el período fueron: AMP 84,5, TMS 41,5, NIT 0,7, cefalosporinas de 3 generación (C3G) 0.5, CIP 0,2 y FOS 0,2. El %NS a TMS disminuyó entre los años 2010-11 y 2016-17 (59.5 vs 34%) ($p<0.0001$), mientras que el %NS a NIT aumentó (0,5 vs 1,1%) ($p=0.0048$). En 2016-17 5/332 (1.5%) SHF no tuvieron fenotipo salvaje a azitromicina (AZI). Los %NS de SHS en promedio fueron: TMS 81,7, AMP 45,6, C3G 0,8, NIT 0,5, CIP 0,3 y FOS 0,2. Algunos ATM registraron un aumento en %NS entre 2010-11 y 2016-17: AMP (28,5 vs 64,3%, $p<0.0001$), C3G (0,1 vs 2,1%, $p<0.0001$) y NIT (0,1 vs 0,8%, $p=0.0298$). TMS disminuyó su %NS de 85,1 a 74.5% ($p<0.0001$). Comparando los %NS entre estas dos especies en los último dos años, SHF presentó mayor %NS a AMP (84,3% vs 64,3%) y menor

%NS a C3G (0.6 vs 2.1%) y a TMS (34 vs 74,5%). SHB presentó %NS de 78 TMS, 31,6 AMP y 2,3 NIT, mientras que C3G, CIP y NIT fueron <1%. De 11 aislamientos de SHI derivados al LNR con AZI<15mm, 7 portaban el gen mphA y los derivados por NS a C3G se confirmaron como productores de CTX-M (17), CMY [11] y PER [1].

Conclusiones: En SHI, FOS, CIP, NIT y C3G presentan bajos %NS por lo que se consideran las mejores opciones para tratamiento empírico. En el período estudiado el %NS a TMS disminuyo en SHF y SHS mientras que aumentó para los betalactámicos y NIT frente a SHS. La NS a algunos ATM varía según la especie, SHS y SHB presentan mayores %NS a TMS, mientras que SHF presenta mayor %NS a AMP. La vigilancia contínua de la NS a los ATM en este género y su estratificación por especies permite tener una visión de la epidemiología Nacional y realizar una optimización de los tratamientos empíricos.

JU 019

0656 - MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE METALOBETALACTAMASAS TIPO NEW DELHI EN UN HOSPITAL PEDIÁTRICO

FIORILLI, Graciela Noemí | AGRIMBAU, Jorge | VENUTA, Elena | ABEL, Sofia | ROLDAN, Carlos | HERNANDEZ, Claudia

HOSPITAL DE PEDIATRIA S.A.M.I.C. "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN"

Introducción y Objetivos: New Delhi metalobetalactamasa (NDM) se identificó por primera vez en 2008 en un paciente sueco infectado con Klebsiella pneumoniae. OPS/OMS en 2011 alerta sobre el primer hallazgo en las Américas y en 2013 el laboratorio nacional de referencia INEI- ANLIS Malbrán confirma el primer hallazgo de colonización por *Providencia rettgeri* productora de NDM en CABA Argentina. Objetivos: Describir la prevalencia de la colonización por enterobacterias y bacilos no fermentadores productores de carbapenemasas tipo New Delhi en nuestro hospital.

Materiales y Métodos: Estudio observacional retrospectivo, descriptivo de aislamientos de enterobacterias y bacilos no fermentadores de glucosa (BNF), productores de NDM, provenientes de hisopados rectales de pacientes atendidos en el Hospital J P Garrahan en el periodo enero 2016-mayo 2019. Las muestras sembradas en medio CHROMagar KPC, se identificaron con VITEK-MS y se estudió el antibiotipo con VITEK-2C. La resistencia a colistin se estudió con el método de predifusión y la resistencia a fosfomicina y tigeciclina con el método de difusión. La presencia de carbapenemasas se evidenció con el método colorimétrico Blue Carba y sinergia entre los discos de meropenem y EDTA. La confirmación de esta MBL se hizo por métodos moleculares.

Resultados: En el periodo 2016-2019 (n: 9230) se aislaron enterobacterias (n: 15) y bacilos no fermentadores (n: 4) productores de NDM. La distribución por año fue n: 2 (año 2016), n: 5 (año 2017), n: 4 (año 2018), n: 8 (2019). En cuanto a las enterobacterias productoras de NDM se encontró *K pneumoniae* (n:12), *E coli* (n: 4), *E aerogenes* (n: 1) y *K oxytoca* (n:1). Y en BNF: *A baumannii* (n: 3) y *A lwoffii* (n: 1). Los pacientes colonizados son en su mayoría trasplantados (5 hepático y 1 médula ósea), oncológicos, cardiópatas y una minoría con patologías respiratorias y neurológicas. En cuanto a la resistencia antibiótica: carbapenemes y cefalosporinas (100%), amikacina (85%), gentamicina (75%), ciprofloxacina (65%), aztreonam (40% y BLEE negativa) y fosfomicina (40%). Todos los aislamientos fueron sensibles a colistin y tigeciclina. Cabe destacar que en tres pacientes se aislaron dos enterobacterias, *E coli* y K pneumoniae, ambas productoras de NDM y en dos de ellos también se aislaron a partir de colección abdominal. Otros dos pacientes trasplantados (hepático y mèdula ósea) se infectaron con foco abdominal (K pneumoniae) y urinario (A baumannii).

Conclusiones: Describimos la prevalencia de microorganismos productores de carbapenemasas tipo NDM (0.22%) en muestras de pacientes pediátricos internados. En el presente año, 25% de los pacientes colonizados se infectaron. Recomendamos la vigilancia para control del foco y prevención de futuras infecciones.

U 020

0666 - PERITONITIS AGUDAS GANGRENOSAS. SITUACIÓN EN UN HOSPITAL DE AGUDOS DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES.

SCORZATO, María Laura [1] | MONTOTO, Mariana[1] | VARDARO, Gustavo[2] | VENTURA, Victoria[2] | MILLARA, Monica[1]

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS J.M. PENNA [1]; SERVICIO CIRUGÍA HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS J. M. PENNA [2]

Introducción y Objetivos: La peritonitis aguda gangrenosa es una de las presentaciones habituales en procedimientos quirúrgicos en un hospital de agudos y resulta una preocupación a la hora de evitar futuras complicaciones. La toma de cultivos durante estos procedimientos es controvertida, pues su utilidad es limitada

excepto en el ámbito epidemiológico. En el contexto del uso racional de antibióticos (ATB) se sugieren esquemas empíricos de 3 a 4 días, basados en aminoglucósidos combinados con metronidazol (MTZ). Desde principios de 2018 se ha tomado esta conducta en nuestro hospital continuando tratamiento con ciprofloxacina (CIP) en la externación. Fue entonces que decidimos cultivar las peritonitis secundarias, para tener así, una idea más clara de situación que podría resultar de utilidad al equipo de salud. Objetivos: conocer la sensibilidad antibiótica de los aislamientos de mayor prevalencia en peritonitis agudas gangrenosas y las tasas de infección de sitio quirúrgico (ISQ) anuales asociadas, a fin de evaluar el tratamiento ATB actual.

Materiales y Métodos: Observacional descriptivo retrospectivo. De 175 apendicitis agudas gangrenosas (AAG) de pacientes sin comorbilidades y sin internación previa, se analizaron 91 muestras provenientes de colecciones abdominales recolectadas de las peritonitis purulentas (PP) durante los procedimientos quirúrgicos, desde abril de 2018 a marzo de 2019 (1 año). Se utilizó Sistema VITEK2C Biomerieux para la identificación y sensibilidad (S) antibiótica. Se cultivaron los materiales purulentos provenientes de heridas y abscesos intraperitoneales en el entorno posquirúrgico y se calcularon las tasas de infección asociadas tomando en cuenta el tipo etiológico entérico del aislamiento y la etiología clínica de la infección.

Resultados: El 70,3% resultó positivo para cultivo en aerobiosis y el 51% para anaerobiosis. De los gérmenes aeróbicos el 96,9% fueron enterobacterias de las cuales el 91,9% resultaron *Escherichia coli*. De estos aislamientos un 42.6% fue S a ampicilina, 43.1% a ampicilina sulbactam, 94.4% cefalosporinas de tercera generación, 83.3% CIP, 100% amikacina, gentamicina(GEN) 98.1%, trimetoprima sulfametoxazol 66.7%, piperacilina tazobactam 94.4 % y carbapenemes 100%. La tasa de ISQ de las AAG resultó del 13.7% anual y si se toma en torno a las PP ésta asciende al 23.4% anual. Todas ellas con buena evolución.

Conclusiones: Como propuesta al tratamiento empírico, la GEN con más del 90% de S, resulta de elección en nuestra comunidad y el 51% de cultivos anaeróbicos positivos avalan el uso del MTZ. Las tasas de ISQ parecen aceptables comparadas con otros estudios similares. Por sus valores de S la CIP, no sería apta para el tratamiento empírico utilizado en la externación del paciente. Siendo que la OMS la considera como de alta prioridad para regular su uso, sería de evaluar un tratamiento acortado a GEN/MTZ, ya que evidencias demuestran que luego de un exitoso control quirúrgico del foco, no es necesario prolongar el consumo de ATB.

JU 021

0752 - ACTIVIDAD ANTITUMORAL DE UN EXTRACTO DE "DIENTE DE LEÓN" SOBRE CELULAS INFECTADAS CON VIRUS PAPILOMA HUMANO

VENEZUELA, Raul [1] | MOSMANN, Jessica Paola[1] | KIGUEN, Ana Ximena[1] | MUGAS, Maria Laura[2] | NUÑEZ MONTOYA, Susana[2] | KONIGHEIM, Brenda Salome[1] | CUFFINI, Cecilia Gabriela[1]

INSTITUTO DE VIROLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. [1]; IMBIV- CONICET. DPTO. DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, FAC. CS. QCAS., UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [2]

Introducción y Objetivos: Los compuestos naturales son la base de los tratamientos farmacológicos y más del 50% de medicamentos contra el cáncer son de origen natural o al menos derivan de los compuestos naturales. En tal sentido Taraxacum officinale G. Weber ex F.H. Wigg ("diente de león") mostró en estudios previos, diversas bioactividades, en diferentes líneas celulares de cáncer. Sabiendo la estrecha relación entre la infección del virus papiloma humano (VPH) y la progresión al cáncer de cuello de útero (CaCu), nos propusimos evaluar los efectos de un extracto de raíz de T. officinale sobre la proliferación, supervivencia, migración y la expresión de oncogenes virales, en líneas celulares infectadas con VPH.

Materiales y Métodos: Se obtuvo el extracto etanólico (R-EtOH) a partir de raíces de T. Officinale y se utilizaron líneas celulares de CaCu infectadas con VPH 16 y 18 (CaSki y HeLa), células CaCu sin VPH (C33A) y queratinocitos inmortalizados (HaCaT). La citotoxicidad se evaluó por medio de la reducción de MTT, incubando las células con 15 concentraciones diferentes de R-EtOH, durante 48 hs. A partir de este ensayo se obtuvieron las concentraciones inhibitorias 20 [IC20] y 50 [IC50], las cuales fueron utilizadas para los ensayos posteriores. Para evaluar la supervivencia luego de la exposición a R-EtOH, se realizó el ensayo clonogénico. La respuesta apoptótica se observó: utilizando el ensayo de TUNEL por microscopia luego de 48 hs de exposición a IC20 e IC50, y a través de la medición de Anexina V y 7-AAD a 24 y 48 hs de exposición con IC20 por citometría de flujo (CF). El efecto sobre la migración celular fue evaluado mediante un ensayo de cicatrización de heridas exponiendo las diferentes células a IC20 durante 24 hs. Para evaluar la expresión relativa del oncogén E6 de los VPH 16 y 18 se realizó una qPCR utilizando GAPDH como gen de referencia

Resultados: El extracto de R-EtOH mostró un efecto citotóxico dependiente de la dosis en todas las líneas celulares, siendo mayor en las células de CaCu. Diferentes concentraciones de R-EtOH disminuyeron el número y el tamaño de las colonias en todas las líneas celulares, afectando principalmente a las células de CaCu. El aumento en la concentración de R-EtOH, asi como el tiempo exposición, se tradujo en un mayor porcentaje de células en apoptosis en el ensayo de Tunel y en la CF, sin efectos significativos en HaCaT. El ensayo de cicatrización de heridas mostró que R-EtOH, inhibe eficazmente la migración celular en comparación con las células no tratadas. La expresión del gen E6 se redujo de manera dependiente de la dosis de R-EtOH aplicada.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que el extracto de R-EtOH contiene componentes bioactivos que disminuyen la expresión de oncogenes de VPH, y afectan la proliferación, supervivencia, y migración de las células de CaCu. Por lo tanto, consideramos importante continuar explorando los componentes de R-EtOH como una fuente de nuevos quimioterapéuticos para tratar las lesiones provocadas por el VPH. Apoyo económico: PIODO MincyT-Cba. PICT 2016. Fundación Roemmers. SeCyT UNC.

JU 022

0753 - PERFIL DE SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE DERMATOFITOS

MERELES RODRIGUEZ, Beda Elizabeth | FIEDLER, Jacqueline | PERALTA, Andrea | BRUQUETAS, Azucena | CHADE, Miriam

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICA Y NATURALES/UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

Introducción y Objetivos: Los dermatofitos ocasionan micosis cutáneas con variados cuadros clínicos que van de leves hasta intensamente inflamatorias. Aunque existen muchos casos con mala respuesta al tratamiento antifúngico, se han realizado muy pocos estudios de sensibilidad a nivel mundial. El objetivo del estudio fue evaluar in vitro la concentración inhibitoria mínima (CIM) de terbinafina, itraconazol y fluconazol, frente a hongos dermatofitos aislados de muestras clínicas.

Materiales y Métodos: Se trabajó con 52 cepas de las especies: *Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Microsporum canis, Microsporum gypseum* y *Trichophyton tonsurans* y *Epidermophyton floccosum*. Las pruebas de sensibilidad antifúngica se llevaron a cabo mediante el método de microdilución en caldo, de acuerdo con el documento M38-A2 del CLSI. Los antifúngicos ensayados fueron terbinafina, itraconazol y fluconazol. El intervalo de concentraciones de los antifúngicos fue: para terbinafina e itraconazol de 16-0,03 mg/L y para fluconazol de 64-0,12 mg/L. El medio de cultivo utilizado es el medio sintético RPMI 1640 con 0,3 g/L de L-glutamina y 0,165 M de tampón MOPS (34,54 g/L) sin bicarbonato sódico. Se utilizaron placas de microdilución estériles, de 96 pocillos con fondo en forma de U. El inóculo se ajustó a 1-3 x 10^3 UFC / ml mediante conteo de conidios en cámara de Neubauer. Las placas inoculadas fueron incubadas a 35 °C, las lecturas se realizaron a las 24, 48, 72 y 96 hs de forma visual con la ayuda de un espejo para lectura de placas de microdilución.

Resultados: Frente a las cepas de *T. mentagrophytes* ensayadas los resultados de CIM para terbinafina oscilaron entre 0,03 - 0,5 mg/L; para itraconazol 0,12 - 0,50 mg/L; para fluconazol estuvieron entre 16 a > 64 mg/L. Con las cepas de *T. rubrum*, terbinafina presentó valores de CIM que oscilaron entre 0,03-0,5mg/L, para itraconazol estuvieron entre 0,25-0,5 mg/L y fluconazol mostró valores de 8 a > 64 mg/L. En el caso de *M. canis,* la lectura de CIM para terbinafina estuvo entre 0,06 -0,12 mg/L, para itraconazol se observaron valores entre 0.5 - 4mg/L y en el caso de fluconazol valores de 16 a > 64 mg/L. Con las cepas de *T. tonsurans* los valores de CIM para terbinafina estuvieron entre 0,03-0,06 mg/L, para el itraconazol osciló entre 0,5 - 4mg/L, y el fluconazol presentó valores de CIM >64mg/L. En el caso de *M. gypseum* se observaron valores de CIM para terbinafina que estuvieron entre 0,06 -0,25 mg/L, para itraconazol entre 1-2 mg/L y para fluconazol entre 32 y >64mg/L. Frente a *E. floccosum* la CIM de terbinafina estuvo entre 0,06 -0,12 mg/L, itraconazol entre 0,5-2 mg/L y fluconazol entre 32 y >64mg/L.

Conclusiones: Se concluye que frente a las cepas de dermatofitos estudiadas, la terbinafina es el antifúngico más activo (CIM entre 0,03 y 0,5 mg/ L), seguido de itraconazol (CIM entre 0,12 y 4 mg/L). Fluconazol es el antimicótico que presenta menor actividad ante estas cepas (CIM entre 8 y >64 mg/L).

JU 023

0755 - NOVEL BORONIC ACID TRANSITION STATE INHIBITORS (BATSI) WITH POTENT ACTIVITY AGAINST CTX-M ß-LACTAMASES

RODRIGUEZ, María Margarita[1] | GHIGLIONE, Barbara[1] | MANNA, Georgina[1] | CASELLI, Emilia[2] | TARACILA, Magdalena[3] | GUTKIND, Gabriel[1] | PRATI, Fabio[2]| BONOMO, Robert A.[3] | **POWER, Pablo** [1]

LABORATORIO DE RESISTENCIA BACTERIANA - FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA - UBA [1]; DEPARTMENT OF LIFE SCIENCES, UNIVERSITY OF MODENA AND REGGIO EMILIA [2]; CLEVELAND VA MEDICAL CENTER [3]

Introduction and objectives: ß-Lactamase production is the most common mechanism of resistance in clinically important Gram-negative pathogens. Among them, CTX-M are pandemic extended-spectrum ß-lactamases (ESBLs) that shows high catalytic efficiency towards cefotaxime and ceftazidime, but generally sparing ceftazidime. Overall, the commonly used mechanism-based inhibitors like clavulanic acid and tazobactam, as well as novel non-ß-lactam inhibitors such as avibactam, have proven excellent inhibitory activity against ESBLs, several mutations can render these compounds ineffective. To overcome this, attention

is focused on developing novel ß-lactamase inhibitors bearing an electrophilic center such as boronic acid transition state inhibitors (BATSI). In this study, we evaluated the activity of two synthetized BATSIs (S02030 and MB_{076}) targeting CTX-M-96, a variant related to CTX-M-15, one of the most prevalent CTX-Ms in Argentina and worldwide.

Materials and methods: Double disk synergy tests were performed with 10 µg each BATSI on different CTX-M-producing clinical strains. The blaCTX-M-96 gene was cloned in a pET28 vector, and CTX-M-96 was purified from an Escherichia coli BL21 strain. IC50s were measured after 5-min preincubation of the enzyme and each BATSI at increasing concentrations. The rate constants, kobs, were obtained by mixing the enzyme with different BATSI concentrations ([BATSI]); the second-order k2/K was determined by fitting kobs vs [BATSI]. The koff was determined by mixing CTX-M-96 with 100 µM nitrocefin after preincubating with a saturating amount of each BATSI.

Results: Both BATSI showed a strong synergy effect on disk diffusion assays on E. coli strains producing CTX-M-96 and CTX-M-55 (group 1), and CTX-M-65 (group 9), with zone sizes increased >20 mm when partnered with cefotaxime. Both S02030 and MB_{076} showed IC50 in the nM range (2 and 4 nM for S02030 and MB_{076}, respectively). Inhibition efficiency (k2/K) and off-rate (koff) were 24,000 M-1.s-1 and 0.00075 s-1 for S02030, and 3,900 M-1.s-1 and 0.00062 s-1 for MB_{076}, indicating that S02030 possesses a more rapid acylation effect on this CTX-M variant. For S02030, the k2/K for CTX-M-96 was twice the reported value for KPC-2 (12,000 M-1.s-1), and the IC50 was 40-fold lower for CTX-M-96 (80 nM for KPC-2).

Conclusions: The boronic acid derivatives S02030 and MB_{076} demonstrate very potent activity against ESBLs of the CTX-M family, showing kinetic parameters that seem to be much better than those obtained for ß-lactamases like KPC-2. These are promising results that highlight the efforts for the development of new inhibitors, especially against these pandemic ß-lactamases.

JU 024

0781 - DISEMINACIÓN DE MARCADORES DE RESISTENCIA A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACIÓN, CARBAPENEMES Y COLISTINA EN UN EFLUENTE DE AGUAS RESIDUALES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

GHIGLIONE, Barbara[1] | NUÑEZ, Lidia[2] | FIGUEROA, Roque[1] | TORNELLO, Carina[2] | MANTOVANO, Julián[2] | BRUNETTI, Florencia[1] | SANTIAGO BISPO DA SILVA, Jéssica[3] | DI CONZA, José[1] | MORETTON, Juan[2] | GUTKIND, Gabriel[1] | POWER, Pablo[1] | **DROPA, Milena** [3]

LABORATORIO DE RESISTENCIA BACTERIANA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [1]; CÁTEDRA DE HIGIENE Y SANIDAD, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]; LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA, UNIVERSITY OF SÃO PAULO [3]

Introducción y Objetivos: La presencia de microorganismos resistentes a los antimicrobianos en el ambiente es una preocupación emergente con serias implicancias en Salud Pública. El objetivo de este estudio fue evaluar la propagación de genes de resistencia, elementos genéticos móviles y la diversidad de los microorganismos productores de ß-lactamasas (Bla) en un efluente de aguas residuales.

Materiales y Métodos: Se recolectaron 1000 ml de agua "pre-tratamiento" de una planta de procesamiento de efluentes residuales de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Se determinó el porcentaje de bacilos gram negativos resistentes a antibióticos por el método de dilución en agar en el medio violeta rojo bilis lactosa agar (VRBLA), con y sin antibiótico (ceftriaxona, ceftazidima, imipenem, meropenem y colistina). La muestra fue además filtrada con filtros de celulosa (poros de 0,45 µM). El ADN se extrajo directamente de una de las membranas utilizando un kit comercial y se utilizó para la búsqueda por PCR de grupos de incompatibilidad de plásmidos según Carattoli et al. (Inc); integrasas de clase 1, 2 y 3 (*intI*); transposasas IS*CR1*, IS26, IS10 y IS*Ecp1*; genes codificantes de ß-lactamasas (*bla*) CTX-M, IMP, VIM, SPM-1, NDM, PER-2, GES, CMY, KPC y OXA-48; y genes codificantes de fosfoetanolamina-transferasa MCR-1, -2 y -3. La membrana restante se cultivó en agar McConkey. Se determinó la sensibilidad a los antibióticos utilizando la técnica por difusión en disco (CLSI). La identificación bacteriana se realizó por MALDI-TOF/MS. Los microorganismos sospechosos de producir Bla fueron evaluados por PCR.

Resultados: Se observó una prevalencia del 4,5% de bacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación. Los genes detectados en el ADN extraído de la membrana incluyeron al grupo de incompatibilidad plasmídico *IncF*, integrasas *intI1* e *intI3* y las 4 transposasas evaluadas, los genes *bla*CTX-M, *bla*OXA-48, *bla*VIM, *bla*NDM, *bla*PER-2, *bla*GES, *bla*CMY y *bla*KPC; y *mcr*-1 y *mcr*-3. Se identificaron aislamientos de *Klebsiella pneumoniae, K. variicola* y *Enterobacter cloacae* Complex productores de KPC-2. La detección del gen *pilv-I* en *K. pneumoniae* fue negativa. Los dos únicos aislamientos recuperados de *Escherichia coli* poseían *bla*CTX-M-2 asociada a integrón complejo de clase 1, y un aislamiento de *K. pneumoniae* poseía *bla*CTX-M-15 y *bla*KPC-2; las metalo-ß-lactamasas *bla*IMP y *bla*VIM se detectaron como gen en casete de un integrón de clase 1 en aislamientos de *K. oxytoca* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusiones: La aparición de genes de resistencia a antimicrobianos de última elección, así como elementos genéticos móviles, en ADN metagenómico y patógenos multirresistentes potencialmente relevantes en una muestra de aguas residuales sin tratar puede contribuir a la propagación de la resistencia bacteriana. Nuestros resultados resaltan la necesidad de centrarse en el concepto de "Una Salud", con el objeto de establecer políticas efectivas para reducir este creciente problema de Salud Pública.

JU 025

1003 - CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *ESCHERICHICA COLI* PRODUCTORAS DE BLEE Y RESISTENTES COLISTINA AISLADOS DE POLLOS Y PORCINOS EN PERÚ

GONZALES ESCALANTE, Edgar | GUTKIND, Gabriel | DI CONZA, Jose

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Introducción y Objetivos: La diseminación de la resistencia a la colistina codificada por mcr-1 en bacterias Gram-negativas ha creado una situación crítica en la cria de aves de corral, la ganadería y la salud pública. Un motivo extra de preocupación es la coexistencia del gen mcr-1 con otros genes de resistencia a múltiples fármacos, como lo son las ß-lactamasas de espectro extendido (BLEE). Tanto los animales de consumo (aves de corral, cerdos y ganado) como las mascotas pueden diseminar microorganismos portadores de estos mecanismos de resistencia hacia la población humana, otros animales o el medio ambiente. En Perú, el uso de antimicrobianos para promover el crecimiento de aves de corral y ganado es elevado, lo cual se encuentra asociado a un riesgo de selección y amplificación de bacterias resistentes. Presentamos el primer reporte sobre la proporción de mcr-1 en aislamientos fecales de *Escherichia coli*productores de BLEE en pollos y porcinos en Perú.

Materiales y Métodos: Se analizaron 200 hisopados cloacales de pollos de dos granjas avícolas recolectadas en noviembre de 2015, y 150 hisopados rectales de porcinos de un criadero único, en agosto de 2017. Se seleccionaron *E. coli* resistentes a cefalosporinas de tercera generación en agar Mac-Conkey suplementado con cefotaxima (4µg/ml). La identificación se hizo por métodos convencionales y la confirmación fenotípica de BLEE según las recomendaciones del CLSI. En todos los aislamientos resistentes a colistina se buscaron genes de resistencia a fosfomicina (fosA3).

Resultados: De cada placa individual se aisló una colonia, rindiendo 184 *E. coli* productores de BLEE en las muestras de aves, de los cuales 122 (66,3%) fueron resistentes a la colistina; y a partir de los porcinos, 118 *E. coli* productores de BLEE, de los cuales 45 (38,1%) fueron resistentes a la colistina, todos portadores del gen mcr-1. Además, se detectó el gen de resistencia plasmídica a fosfomicina fosA3 en 68/122 (55,7%) de los aislamientos de pollo productores de mcr-1 y en 33/45 (73,3%) de los aislamientos de porcinos.

Conclusiones: En conclusión, este estudio muestra la presencia de aislamientos de *E. coli* comensales recuperadas de animales de consumo sanos donde coexisten diferentes genes BLEE (mayoritariamente CTX-M), mcr-1 y fosA3. La diseminación de estos aislamientos resistentes en las granjas de pollos y criaderos de porcinos, pueden representar una gran amenaza a la salud pública en Perú.

CAM - Bacteriología básica

JU 026

0415 - CARACTERIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE LA ADHESINA CURLI Y FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN DIVERSOS AISLAMIENTOS DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7

GONZALES MACHUCA, Adrián [1] | GENTILUOMO, Jimena Paola[2] | SUCARI, Adriana[2] | FERNANDEZ CANIGIA, Liliana[3] | SARNACKI, Sebastian H.[1] | QUIROGA, Cecilia[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA [1]; STAMBOULIAN, LABORATORIO DE ALIMENTOS [2]; HOSPITAL ALEMÁN [3]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 es el principal agente responsable de colitis hemorrágica y del síndrome urémico hemolítico. EHEC posee diversas adhesinas que intervienen en el proceso de colonización, como ser curli, la cual está asociada a la formación de biopelículas además de estar implicada en la adhesión celular, invasión y activación del sistema inmune. Curli se encuentra codificada en dos operones, *csgBAC* y *csgDEFG*, siendo *csgD* su principal regulador. A la fecha existen pocos estudios que evalúan la sintesis de curli y formación de biopelículas en diversos aislamientos de EHEC O157:H7. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad de síntesis de la adhesina curli y de formación de biopelículas en diversos aislamientos de EHEC procedentes de muestras clínicas o de alimentos.

Materiales y Métodos: Se emplearon 2 aislamientos clínicos (CQ17 y CQ148) procedentes de hospitales de la ciudad de Buenos Aires, 4 de alimentos contaminados (CQ144, CQ145, CQ146 y CQ147) junto con las cepas control *E. coli* enteroagregativa (CQ100) y *E. coli* MG1655. Se determinó el morfotipo de macrocolonias y la producción de curli en medio LB agar suplementado con rojo congo y *coomassie brillant blue* a diferentes temperaturas (28 y 37°C) y en ausencia de NaCl durante 48 y 120 h. Se cuantificó la capacidad de adherencia de las distintas cepas cultivadas a 28°C y 37°C por 48 y 120 h sobre poliestireno seguido de la tinción con cristal violeta. RT-PCR. Se extrajo el ARN total de las cepas con Trizol, se lo trató con DNAse I-RNAse free, y se sintetizó el cDNA con la enzima M-MLV RT y un *primer* específico para el gen *csgD*. Luego se amplificó dicho gen con *primers* específicos por PCR.

Resultados: El análisis de la síntesis de curli mediante el ensayo de rojo congo mostró una gran variabilidad entre las distintas cepas. Las cepas CQ146 y MG1655 crecidas a 28°C a partir de las 48 h mostraron el morfotipo *rdar* característico de la producción de biopelículas, mientras que a 37°C no se evidenció dicha producción; las cepas CQ17, CQ148, CQ144, CQ145 y CQ147 mostraron un morfotipo *saw* a ambas temperaturas, que refleja la no producción de biopelículas. Por otro lado, sólo el aislamiento CQ146 mostró la capacidad de adherencia (indicador de la producción de biopelícula) a 28°C tanto a 48 como a 120h. CQ17, CQ148, CQ144, CQ145 y CQ147 no mostraron adherencia. Los ensayos de expresión del gen regulador *csgD* en CQ146 mostraron que se encuentra activo.

Conclusiones: Los parámetros de crecimiento, tiempo y temperatura, contemplados en los ensayos realizados resultaron ser factores únicos de cada aislamiento EHEC O157:H7 que afectan la adherencia al poliestireno y síntesis de curli. El análisis comparativo entre estas características sugiere que existe una gran variablidad en la producción de biopelículas incluso dentro de un mismo virotipo. De esta forma, la colonización/infección por estas bacterias en un hospedador sería inherente a cada aislamiento.

JU 027

0491 - ENTEROCOLITIS POR SALMONELLA ENTERITIDIS DURANTE EL PUERPERIO: EFECTO DEL CONSUMO DE LACTOBACILLUS CASEI SOBRE LA BARRERA INTESTINAL

KRUMMEL, Lucía[1] | **BETANCOURT GORDILLO, Diana Marcela** [1] | MEISS, Roberto[2] | GARÓFALO, Ailin[1] | SARNACKI, Sebastian[1] | BUZZOLA, Fernanda[1] | CERQUETTI, Cristina[1] | NOTO LLANA, Mariangeles[1] | MÓNICA, Giacomodonato[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA [1]; PATOLOGÍA EXPERIMENTAL. ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA. [2]

Introducción y Objetivos: Previamente demostramos que el consumo de L. casei en hembras BALB/c vírgenes previene el aumento de la permeabilidad intestinal durante una salmonellosis, eleva la supervivencia de 80 a 100%, reduce la invasividad y persistencia de Salmonella. Objetivos. Evaluar el efecto preventivo del consumo de L. casei sobre una enterocolitis por S. Enteritidis durante el puerperio.

Materiales y Métodos: Probiótico: leche fermentada de uso comercial, contiene L. casei DN-114001 (LFLC, Danone SA). Modelo de enterocolitis: Hembras BALB/c recibieron al día 15 de gestación LFLC ad libitum durante 7 días consecutivos previo a recibir estreptomicina al día 2 postparto (pp). 24 hs después se infectaron vía intragástrica con 3500 UFC/ratón de S. Enteritidis (dosis subletal). A los 3 días post infección (pi) (día 6 pp) se tomaron muestras para recuento de UFC/órgano, permeabilidad intestinal, qPCR y análisis histológico: Tinciones H&E, PAS y tricrómico de Gomori.

Resultados: Se observó que LFLC no revirtió la hiperpermeabilidad intestinal inducida por S. Enteritidis en las puérperas. Este hallazgo se correspondió con un restablecimiento parcial de la expresión de las proteínas de unión estrecha (TJ) analizadas en el íleo mediante qPCR. Las madres tratadas con LFLC e infectadas presentaron niveles de claudina 2 y 15 similares al control ($p>0.05$). Para Claudina 4 y ZO-1 no se observó dicha reversión. Por el contrario, el consumo de LFLC restauró la expresión de todas las TJ analizadas en las vírgenes infectadas. Mediante qPCR se halló un aumento significativo ($p<0,05$) en los niveles de mucina en el íleo de todos los grupos infectados que recibieron previamente LFLC vs los infectados sin LFLC. Consistentemente, la expresión de IL-10 en íleo se incrementó significativamente ($p<0.05$) en todos los animales que consumieron probiótico. En concordancia, los preparados histológicos de íleo de las hembras con enterocolitis presentaron lesiones inflamatorias moderadas o severas mientras que las que consumieron LFLC previo a la infección presentaron estructuras conservadas. Sin embargo, la administración de LFLC no protegió a las puérperas de la infección y en ambos grupos (con y sin ingesta previa de LFLC) S. Enteritidis se diseminó sistémicamente induciendo una masiva translocación bacteriana al bazo (mediana: 2,4 x 106UFC/g) y un 86% de mortalidad a los 7 días pi. Por el contrario, el consumo previo de LFLC disminuyó la mortalidad de 20 a 0% en las hembras vírgenes infectadas.

Conclusiones: El presente estudio demuestra que la ingesta de L. casei previa a la infección intestinal durante el puerperio revierte algunos de los parámetros alterados por S. Enteritidis a nivel de la barrera intestinal. Sin embargo, esto no es suficiente para prevenir la diseminación sistémica. Por lo tanto, se sugiere que el estado inmunológico de la hembra puérpera podría atenuar los efectos beneficiosos y protectivos de L. casei frente a una enterocolitis.

JU 028

0533 - *SALMONELLA* EN BIOPELÍCULA RESULTA MENOS VIRULENTA QUE EN ESTADO PLANCTÓNICO

SARNACKI, Sebastian | AYA CASTAÑEDA, María Del Rosario | GARÓFALO, Ailin | GIACOMODONATO, Mónica | CERQUETTI, Cristina | NOTO LLANA, Mariangeles

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA

Introducción y Objetivos: La formación de biopelículas sobre los alimentos representa un problema para la salud pública ya que se asocia a más del 80% de las infecciones bacterianas. En los últimos años se ha acumulado evidencia de que patógenos humanos, como *Salmonella* Enteritidis (*S*E) crecen predominantemente formando biopelículas, más que en forma planctónica. Objetivo: Determinar, la respuesta generada en el hospedador según el estado de vida de la bacteria infectante.

Materiales y Métodos: La cepa salvaje *S*E 5694 fue cultivada en dos condiciones de vida; biopelícula o planctónica. Para la condición de biopelícula, se cultivó en caldo LB sin cloruro de sodio, a 28°C por 48 hs sin agitación y para la planctónica, en caldo LB a 37ºC con agitación hasta alcanzar una densidad óptica de 0,6 a 600nm. Modelo murino: ratones BALB/c se inocularon vía intragástrica con 1-3x10^3, 1-3x10^4 y 1-3x10^5 UFC de la bacteria en cada condición de vida. Cinco días post inoculación (pi) se analizó la sobrevida, la colonización bacteriana, el peso esplénico, y la histología intestinal. En otros ensayos, los animales fueron inoculados intraperitonealmente con 0.5 mg/kg de LPS de *S*E extraído a partir de cultivo en condiciones de biopelícula o planctónico. Los niveles de citoquinas en sangre se determinaron por ELISA antes de la administración del LPS, 6 y 24 hs pi. Modelo celular: cultivos de células endoteliales Ea.hy926 se inocularon con una multiplicidad de infección de 10, con los dos modos de vida de la bacteria. Se evaluó la capacidad de invasión y la expresión de IL a los 90 min pi.

Resultados: En el modelo murino, ningún animal murió cuando fue inoculado con 1-3x10^3 UFC de *S*E en biopelícula, mientras que la misma cantidad de UFC de inóculo planctónico produjo una mortalidad del 25% de los ratones. Este porcentaje recién se alcanzó con una dosis infectiva de *S*E en biopelícula de 2 órdenes más alta, junto con una superior colonización del bazo. Independientemente de la dosis infectante, encontramos mayor conservación estructural del intestino de los animales inoculados con biopelículas de *S*E en comparación con aquellos inoculados con la misma dosis del estado planctónico. También determinamos que el LPS planctónico induce mayores niveles de IL-6 y TNF-a circulante que el extraído de biopelículas. De igual manera, en células en cultivo, la biopelícula de *S*E mostró tener menor capacidad invasiva induciendo cantidades disminuidas de IL6 y 8 respecto a las inducidas por aquellas en estado de vida libre.

Conclusiones: El modo de vida en biopelícula de *Salmonella* es menos virulento e invasivo e induce menor respuesta inflamatoria que su contraparte planctónica. Esto podría deberse –en parte- a la disminuida actividad inflamatoria observada producida por el LPS extraído del estado de biopelícula de *Salmonella* comparado con el planctónico. Sin dudas, se necesitan más estudios para la comprensión de la función de la biopelícula de *Salmonella* en la virulencia.

JU 029

0651 - DETECCIÓN DE MARCADORES PROTEICOS DIFERENCIALES DE CEPAS [TCDB+] Y [TCDB-] DE *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE* MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MALDI-TOF-MS).

LEDESMA, Martín [1] | LEGARIA, María Cristina[2] | MELIAN, Sofia[2] | TRAGLIA, Germán[1] | FAMIGLIETTI, Angela[2] | BARBERIS, Claudia[2] | VAY, Carlos[2]

LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA, CATEDRA DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA, FFYB-UBA-CONICET [1]; LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA, CATEDRA DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA, FFYB-UBA [2]

Introducción y Objetivos: *Clostridiodes difficile* toxigénico es el principal responsable de diarrea nosocomial asociada al tratamiento antibiótico. La infección causada por *C. difficile* se encuentra en aumento y presenta una elevada morbi-mortalidad. El diagnóstico microbiológico en nuestro medio se realiza usualmente con métodos rápidos que detectan los marcadores GDH/TcdA/TcdB. Presentan elevada especificidad y baja sensibilidad (~60%), por lo que deben complementarse con métodos más sensibles (PCR) que pueden retardar y encarecer el diagnóstico final. El objetivo de este trabajo fue detectar marcadores proteicos diferenciales de cepas tcdB+ y tcdB- de *C. difficile* por la técnica de MALDI-TOF-MS sin modificaciones del protocolo realizado para la identificación rutinaria.

Materiales y Métodos: Se incluyeron 43 cepas de *C. difficile* aisladas de heces GDH+ (Savyon) en el Hospital de Clínicas "José de San Martín" durante el período 2017-2019. Se realizó a un shock etanólico y se cultivaron en agar sangre/cefoxitina/anaerobiosis. Se identificaron por MALDI-TOF-MS (Bruker BioTyper 3.1, score>2) y

se evaluaron mediante una PCR-in house para detectar el gen tcdB. Se registraron 7 espectros de MALDI-TOF-MS (replicados) en promedio para cada cepa en el rango 2-20 kDa (total 336 espectros). Los espectros se procesaron con el software RStudio mediante una estrategia de machine learning, en la que se dividieron aleatoriamente las 43 cepas en dos grupos: "train" (60%) y "test" (40%). Se entrenó un análisis discriminante binario (BDA) en el grupo "train" para la búsqueda de las señales diferenciales (picos) entre las cepas tcdB +/-. El poder predictivo del modelo se evaluó en el grupo "test" (exactitud (Ex), sensibilidad (S), especificidad (E), Valor predictivo negativo (VPN) y Valor predictivo positivo (VPP) y curvas ROC). Los picos significativos fueron asignados informáticamente mediante bases de datos: Expasy/TagIdent, uniprot, KEEG y STRING.

Resultados: La estrategia implementada con MALDI-TOF-MS tuvo el siguiente poder predictivo: Ex 95%, S 100%, E 80%, VPN 100%, VPP 93% y AUC 0.9. Mientras que la performance de la prueba rápida para las toxinas A/B en el mismo grupo "test" fue: Ex 63%, S 50%, E 100%, VPN 42%, VPP 100% y AUC 0.75. La mayoría (14/15) de los picos diferenciales estaban presentes exclusivamente en las cepas tcdB-.

Conclusiones: El análisis de los espectros con MALDI-TOF-MS podría ser una estrategia alternativa/confirmatoria/complementaria para diferenciar cepas tcdB+ y tcdB- de *C. difficile*. Es interesante notar que la búsqueda bio informática reveló que algunas diferencias estaban relacionadas con proteínas asociadas con bacteriófagos que no se detectan en las cepas tcdB+.

JU 030

0670 - CARACTERIZACIÓN MEDIANTE MLST DE CEPAS ARGENTINAS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AISLADAS DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

ÁLVAREZ, Verónica Elizabeth | **CENTRON, Daniela** | QUIROGA, María Paula

INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (IMPAM, UBA-CONICET)

Introducción y Objetivos: La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad hereditaria causada por mutaciones en el gen CFTR. *Pseudomonas aeruginosa* es una de las especies bacterianas patógenas oportunistas que más frecuentemente afectan a los pacientes con FQ, siendo una de las mayores causas de mortalidad y morbilidad. En Argentina, la esperanza de vida para pacientes con FQ (20 años) es considerablemente menor si se compara con otros países tales como Dinamarca (45 años), EE. UU. (38 años) o Europa (35 años). El objetivo de nuestro trabajo fue caracterizar mediante estudios bioinformáticos la población argentina de P. aeruginosa para tratar de identificar la diseminación de clones con comportamiento epidémico en pacientes con FQ de nuestro país.

Materiales y Métodos: Analizamos 35 cepas de *P. aeruginosa* obtenidas de muestras de esputo de 31 pacientes con FQ de 4 hospitales de la ciudad de Buenos Aires y 1 de San Miguel de Tucumán, Argentina. Además, incluimos 50 genomas de *P. aeruginosa* tanto de Argentina como de otras partes del mundo obtenidas de la base de datos Genbank. En el caso de las cepas de nuestro laboratorio que no poseían el genoma secuenciado, utilizamos cebadores específicos para la amplificación de genes del esquema de Multi Locus Sequence Typing (MLST) de P. aeruginosa (acsA, aroE, guaA, mutL, nuoD, ppsA y trpE). Para la identificación de los secuenciotipos (ST) utilizamos la base de datos online pubMLST y luego analizamos los ST mediante e-Burst utilizando el programa Phyloviz v2.0.

Resultados: Los estudios de MLST evidenciaron que las 35 cepas de *P. aeruginosa* de nuestro laboratorio pertenecían a 27 ST diferentes. El análisis mediante e-Burst mostró la existencia de 2 clusters que contenían ST fundadores pertenecientes a cepas aisladas en este estudio. El análisis de los diferentes ST reveló una población de cepas de *P. aeruginosa* genéticamente no relacionada y muy diversa en Argentina, no representada por los clones epidémicos internacionales descriptos anteriormente distribuidos en Europa, EE. UU. o Australia. El 77,77% de los ST fueron únicos, lo que indica que hay diferentes linajes clonales en la población de *P. aeruginosa* de Argentina. Identificamos 6 aislamientos de *P. aeruginosa* procedentes de 6 pacientes argentinos pertenecientes al nuevo ST 2867. No podemos descartar la posibilidad de que estos pacientes hayan adquirido la misma cepa a partir de una fuente ambiental común o por co-transmisión debido a políticas de segregación ineficientes ya que esta característica no fue analizada en los pacientes del presente estudio.

Conclusiones: Es relevante haber identificado a la cepa *P. aeruginosa* BAA-2112 ($GCA_{002237085.1}$) aislada en EE. UU. en el año 1993 de un paciente con FQ, en la cual detectamos que pertenece al ST 3024, el cual está incluido en el mismo complejo clonal que el ST 2867. Este nuevo complejo clonal se encontraría circulando en pacientes con FQ tanto en EE. UU., como por lo menos a partir del año 2005 en diferentes provincias de nuestro país.

JU 032

0982 - ESTUDIO DE CAMBIOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE UNA PROTEÍNA EXPUESTA A ÁCIDOS BILIARES

BUSTOS, Ana Yanina [1] | FRÍAS, María de Los Ángeles[2] | ARGAÑARAZ, Pablo[3] | ITURRIAGA, Laura Beatriz[4] | TARANTO, María Pía[5] | LEDESMA, Ana Estela[6]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO [1]; CENTRO DE INVESTIGACIONES EN BIOFÍSICA APLICADA Y ALIMENTOS (CIBAAL) [2]; CENTRO DE INVESTIGACIONES EN BIOFÍSICA APLICADA Y ALIMENTOS (CIBAAL) [3]; CENTRO DE INVESTIGACIONES EN BIOFÍSICA APLICADA Y ALIMENTOS (CIBAAL) [4]; CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [5]; CENTRO DE INVESTIGACIONES EN BIOFÍSICA APLICADA Y ALIMENTOS (CIBAAL) [6]

Introducción y Objetivos: Los ácidos biliares (AB) se sintetizan en hígado a partir de colesterol sérico y son liberados a intestino luego de una ingesta rica en lípidos para colaborar con su emulsificación y absorción. Además, los AB representan uno de los principales factores que regulan la composición de la microbiota intestinal. Sin embargo, en la actualidad el mecanismo por el cual estos compuestos limitan el crecimiento bacteriano es en gran parte desconocido. Por ello, en este trabajo evaluamos el efecto del agregado de AB conjugados y libres sobre una proteína modelo con el objeto de profundizar en el conocimiento de su mecanismo de acción antimicrobiano.

Materiales y Métodos: Para ello la enzima amilasa fue expuesta a dos concentraciones (7 y 10 mM) de ácido taurodexicólico (ATDC) y ácido deoxicólico (ADC). Para evaluar la naturaleza de la interacción entre la proteínas y los AB se realizaron estudios de espectroscopia UV-visible e infraroja (FTIR), microscopía electrónica, DLS, cálculos de docking molecular y medida de actividad enzimática.

Resultados: Mediante espectroscopia UV-visible se observaron cambios en la intensidad de la banda a 280 nm (correspondiente a la proteína), la cual se atenúa de manera significativa ($p<0,05$) y dependiente de la concentración, en presencia de ambos AB, sugiriendo una interacción con la enzima. Mediante FTIR se observaron cambios en la proporción de hélices alfa con aparición de estructuras desordenadas, efecto que fue más evidente en presencia de ADC. Los cálculos de docking molecular indican que el ATDC interactúa con un residuo de TYR304 en la periferia de la proteina mediante puente hidrogeno, pero no ingresa en el sitio activo de la enzima. Por el contrario, la interacción del ADC involucraría residuos que si intervienen en la actividad enzimática. Empleando microscopía electrónica se observaron cambios conformacionales y agregación de la proteína expuesta a ambos AB. Estos resultados fueron corroborados empleando DLS. Por último, se evaluó si estas alteraciones estructurales afectaban la función de la enzima obervándose pérdida del 40 y 50% de la actividad amilasa en presencia de ADC 7 y 10 mM, respectivamente, sin efectos con el agregado de la especie conjugada (ATDC).

Conclusiones: Nuestros resultados indican que los AB provocan cambios estructurales en una proteína modelo que afectan su función. El efecto depende tanto de la naturaleza de los compuestos en estudio como de su concentración. Estos hallazgos nos ayudan a profundizar en la comprensión de los mecanismos de acción antimicrobianos de los AB.

JU 033

0517 - *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA (STEC): FERMENTACIÓN DE AZÚCARES COMO MÉTODO ORIENTATIVO PARA FACILITAR EL AISLAMIENTO Y EL SEROAGRUPAMIENTO DE CEPAS NO-O157 FRECUENTES EN ARGENTINA

MANFREDI, Eduardo | MILIWEBSKY, Elizabeth | DEZA, Natalia | CARBONARI, Claudia Carolina | BASCHKIER, Ariela | PUTZOLU, Karina | CHINEN, Isabel

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: En el marco de la vigilancia de las enfermedades asociadas a la infección por STEC es fundamental la identificación del patógeno. La PCR$_{stx}$1/*stx*2/*rfb*O157 es una de las técnicas más recomendada en la etapa detección y confirmación de STEC. En la etapa de aislamiento, paso crítico en el diagnóstico de STEC, el uso de agar MacConkey con sorbitol (SMAC) mejora la recuperación de E. coli O157 no fermentador del sorbitol (S-), pero no es diferencial para STEC no-O157 fermentador de sorbitol (S+). En Argentina, cepas del serogrupo O157 son prevalentes y O145 es detectado con mayor frecuencia (70%) entre las cepas STEC no-O157, en casos de enfermedad humana. Otros serogrupos de importancia son: O121, O26, O103, O91, entre otros. Con el objetivo de facilitar la detección y el aislamiento de las cepas STEC no-O157 se propuso estudiar su capacidad de fermentar azúcares para ser utilizada como método orientativo en la determinación de serogrupos no-O157. Los objetivos fueron: a) Caracterizar cepas STEC no-O157 según la fermentación de los azúcares sorbitol (S), ramnosa (Rm), rafinosa (Rf), y dulcitol (D); b) Determinar patrones diferenciales de fermentación.

Materiales y Métodos: Se probaron cepas STEC de los serogrupos O145 (n=138), O121 (n=15), O26 (n=10), O103 (n=6), O59 (n=5), O111 (n=4), O174 (n=3), O91 y O113 (n=2). Para estudiar la fermentación, colonias individuales se sembraron en caldo Rojo fenol y en placas de agar base MakConkey (abMac), ambos con 1% del azúcar correspondiente, y se incubaron 18 h a 37ºC.

Resultados: Todas las cepas fermentaron el S y la Rm, excepto las cepas O26 que fueron Rm (-). Las cepas O111, O174, O59, O91 y O113 fermentaron Rf y D. Las cepas O26 y O103 fermentaron la Rf, y no el D. Las cepas O145 y O121 no fermentaron la Rf, y solo O121 fermentó D. Según los patrones de fermentación, las cepas O145 y O121 pudieron detectarse en placas de abMac-Rf ya que presentaron colonias transparentes. Ambas pudieron luego diferenciarse con antisueros específicos "O" o con la prueba de fermentación del D en tubo (O121 D+ y O145 D-). También se observó beneficioso la incorporación de caldos con Rf y D a las pruebas bioquímicas cuando se conoce la caracterización genotípica (*stx*/*eae*) de las cepas. Un aislamiento *stx*2/*eae*+ no fermentador de Rf /D orienta hacia la detección de una cepa O145, mientras que si solo fermenta el D sería O121. Aislamientos *eae*+ fermentador de Rf/D podrían ser O111 mientras que aquellos *eae*- /Rf+/D+ se orientan hacia los serogrupos O174, O59, O91 u O113. Si la cepa *stx*+/*eae*+ fermenta la Rf y no el D podría ser O26 u O103. Para estos dos serogrupos, la prueba en caldo-Rm, es diferencial y orienta la detección de O26 (Rm-) y O103 (Rm+).

Conclusiones: Por lo tanto los ensayos de fermentación serían de gran utilidad diagnóstica al incorporar una placa de abMac-Rf para detectar las colonias presuntivas tanto de O145 y de O121, como así también el uso de caldos con azúcares para orientar el seroagrupamiento cuando se conoce el perfil genotípico de las cepas.

JU 034

0456 - CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE *SERRATIA MARCESCENS* DE AISLAMIENTOS RECUPERADOS EN UN HOSPITAL DE LA CIUDAD DE ROSARIO

GONZALEZ, Agustina [1] | MARZI, Sabrina Anabel[1] | CASABONNE, Cecilia[2] | AQUILI, Virginia[2] | CAPRILE, Luis[1]

HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO [1]; ÁREA BACTERIOLOGÍA-DPTO DE MICROBIOLOGÍA-FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS-UNR [2]

Introducción y Objetivos: *Serratia marcescens* (*S. marcescens*), es un bacilo Gram negativo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* que se encuentra en el microbioma intestinal del hombre y animales, en el medio ambiente y en reservorios como agua, cañerías, llaves, en insumos hospitalarios como jabones y antisépticos. Este microorganismo ha adquirido gran relevancia clínica por ser responsable de brotes nosocomiales y agente etiológico de gran diversidad de infecciones, sumado a los crecientes informes de resistencia a los antimicrobianos.

Materiales y Métodos: estudio descriptivo de aislamientos de *S. marcescens* en el periodo comprendido entre marzo de 2018 a julio de 2018. Los aislamientos de *S. marcescens* fueron recuperados a partir de muestras de sangre (n=4), lavado broncoalveolar (n=1), punta de catéter (n=1) y secreción de herida (n=1) obtenidos de pacientes internados en un hospital de tercer nivel de la ciudad de Rosario. La identificación y los estudios de susceptibilidad a los antimicrobianos fueron realizados empleando el equipo Vitek 2C (BioMérieux). Se evaluó la susceptibilidad de *S. marcescens* a: amikacina (AKN), ciprofloxacina (CIP), cefepima (FEP), cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ), gentamicina (GEN), piperacilina- tazobactam (PTZ), trimetoprimasulfametoxazol (STX), imipenem (IPM), meropenem (MEM). Para evaluar una posible relación clonal entre los aislamientos se empleó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), empleando los cebadores ERIC1 (5'-TGAATCCCCAGGAGCTTACAT-3') y ERIC2 (5'- AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'). Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico SPSS

Resultados: Las muestras analizadas en las cuales se recuperó *S marcencens* como único aislamiento correspondían a pacientes internados en las salas de Clínica, Traumatología, Pediatría, Neonatología y Unidad de Terapia Intensiva. Todos los aislamientos presentaron sensibilidad a los carbapenemes, TMS, GEN y AKN. Además, se observó resistencia a CIP (2/7), CAZ (2/7), CTX (2/7) y FEP (2/7), con producción de beta lactamasa de espectro extendido (BLEE). Se obtuvieron 6 patrones de amplificación por ERIC-PCR. Uno de los patrones fue compartido por 2 aislamientos provenientes de hemocultivos y de secreción de herida de pacientes internados en las salas de Clínica y Traumatología.

Conclusiones: El análisis del polimorfismo obtenido por ERIC-PCR de los aislamientos de *S. marcescens* no reveló la presencia de un clon dominante o epidémico. El estudio descripto resulta de interés por tratarse de *S. marcescens*, especie de baja frecuencia de aparición en el hospital, estar asociada a infecciones esporádicas o epidémicas y de presentar un elevado nivel de resistencia a los antimicrobianos y a los agentes antisépticos utilizados, lo que asegura la persistencia de este patógeno por largos períodos en el ambiente hospitalario.

JU 035

0523 - ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DE LAS DIARREAS AGUDAS EN UN HOSPITAL PEDIÁTRICO DE LA CIUDAD DE SANTA FE

DEGIOVANNI, Gabriela | ARO, Carolina | ZURBRIGGEN, Laura | CAÑETE, Andrea | BARONI, Ma. Rosa | MA. JOSÉ, Blesa

HOSPITAL DE NIÑOS DR. ORLANDO ALASSIA

Introducción y Objetivos: Los agentes bacterianos mayormente involucrados en cuadros diarreicos, son los géneros Shigella, *Campylobacter*, Salmonella y E.coli diarreogénica. En nuestro país, el síndrome diarreico es una de las principales causas de morbimortalidad infantil. Objetivos: 1- Evaluar la calidad de las muestras remitidas, según observación macroscópica, 2- describir la frecuencia de los agentes etiológicos hallados y el perfil de sensibilidad a los antimicrobianos y 3- realizar un estudio comparativo de dos metodologías para la investigación de *Campylobacter*.

Materiales y Métodos: Estudio retrospectivo y descriptivo. Se analizaron los resultados de las muestras de materia fecal procesadas entre enero 2018 - abril 2019. Las muestras (n=746) fueron sembradas en agar sangre, agar Mac Conkey sorbitol, agar salmonella-shigella (SS), agar Cromo-0157. Se incubaron a 35-37°C durante 24-48 hs. Para la investigación de *Campylobacter* se utilizó medio Skirrow modificado y además se sembró mediante la técnica de filtración colocando una membrana de papel filtro (poro 0,45 µm) sobre agar sangre ovina al 5%, y sobre éste se depositó la muestra, se incubó durante 10 min a 37°C, se retiró el filtro y se incubó, a igual que las placas de Skirrow, a 42ºC durante 48 horas en atmósfera microaerofílica. Las pruebas de Identificación y sensibilidad se realizaron por método automatizado y manual siguiendo normas CLSI.

Resultados: Sobre 746 muestras, el 80% (n=594) resultaron con características macroscópicas compatibles con infección intestinal. Del total de las muestras aptas, el 21% (n=125) resultaron positivas. Se obtuvo un 60% de S.flexneri, 26,4% S.sonnei, 5,6% *Campylobacter* jejuni, 1,6% *Campylobacter* coli, 5,6% Salmonella spp, 0,8% de Plesiomonas shigeloides y 0,8% E.coli 0157.Referido a la sensibilidad, S.flexneri presentó 3 % de sensibilidad a AMP, 79% a TMS y todas fueron categorizadas como wilde type según los puntos de corte epidemiológicos para azitromicina. S. sonnei presentó 9 % de sensibilidad a AMP y 27% a TMS. *Campylobacter* jejuni/coli presentó 100% de sensibilidad a eritromicina y 33% a ciprofloxacina. Salmonella spp presentó 57% de sensibilidad a AMP, 71% a TMS y 86% a ceftriaxona. El número de aislamientos de *Campylobacter* jejuni/coli fue el mismo en ambas metodologías.

Conclusiones: S.flexneri predominó sobre S.sonnei. Ambas mostraron alta sensibilidad a ceftriaxona y baja sensibilidad a ampicilina. Se observó marcada diferencia en cuanto a la sensibilidad a TMS. El único aislamiento de Salmonella resistente a ceftriaxona presentó Betalactamasa de espectro extendido. *Campylobacter* spp continua presentando alta sensibilidad a eritromicina. Al comparar las dos metodologías para la investigación de *Campylobacter* se observó estrecha correlación entre ambas, concluyendo que mediante la metodología que emplea filtros se obtienen aislamientos puros que facilitan su estudio, no necesitando de medios selectivos para su recuperación.

JU 036

0535 - HIGH FREQUENCY OF NICHOLS-LIKE STRAINS AND RISING PREVALENCE OF MACROLIDE RESISTANCE IN *TREPONEMA PALLIDUM* ISOLATES IN ARGENTINA

MORANDO, Nicolas [1] | GUZMAN, Lucía Florencia[1] | VRBOVA, Eliska[2] | MELGAR, Asunta[3] | RABINOVICH, Daniel[1] | ŠMAJS, David[2] | PANDO, María de Los Ángeles[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS EN RETROVIRUS Y SIDA (INBIRS) [1]; UNIVERSIDAD MASARYK [2]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, HOSPITAL DE CLÍNICAS "JOSÉ DE SAN MARTÍN", PETS [3]

Introduction and objectives: Characterization of Treponema pallidum (TPA) clinical isolates at the genomic level helps to better describe the epidemic conditions and elucidate transmission networks. Globally, 94% of clinical isolates belong to the SS14-like group and 6% to the Nichols-like group, with up to 100% macrolide resistance. Argentina has a higher frequency of Nichols-like strains (27%) and low macrolide resistance (14%). Since several studies suggested that the molecular epidemiology of TPA is changing, our objective was to assess TPA strain distribution and macrolide resistance in Buenos Aires.

Materials and methods: DNA was isolated from swabs from syphilis patients in 2018. TPA loci TP0136, TP0548, 23SrDNA were characterized by Sequencing-Based Molecular Typing. Strains were classified into clades Nichols-like or SS14-like. We determined the presence of macrolide resistance-associated mutations (A2058G/A2059G) in 23SrDNA. Analyses were performed using Fisher´s exact test.

Results: A total of 32 swab samples were typeable: 40.6% (n=13) were Nichols-like and 59.4% (n=19) SS14-like. Macrolide resistance prevalence was 46.9% (15/32), with SS14-like samples being significantly more frequent than Nichols-like samples (63.2% (12/19) vs. 23.1% (3/13), respectively; p=0.0359). A total of 6 allelic profiles were found, 1 different from genotypes described previously. Unlike a previous study (samples collected in the same setting between 2006-2013, n=41), the frequency of Nichols-like strains tended to increase (26.8% vs. 40.6%,p=0.31). Overall, macrolide resistance increased significantly (14.3% vs. 46.9%, p=0.0037) between studies. Specifically, resistance significantly increased in SS14-like samples (16.7% vs. 63.2%, p=0.0017) but not in Nichols-like samples (9.1% vs. 23.1%, p=0.5963).

Conclusions: The frequency of Nichols-like strains in Argentina is considerably higher than that reported in most countries. Even though macrolide resistant isolates were detected previously at a relatively low frequency in Argentina, our results reveal a dramatic increase. These results are in line with international tendencies.

JU 037

0483 - PREVALENCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN HISOPADO NASAL, FARINGEO, AXILAR Y DE PLIEGUE INGUINAL EN PACIENTES DE UN HOSPITAL DE ROSARIO DURANTE EL PERIODO COMPRENDIDO ENTRE ENERO Y DICIEMEBRE DE 2018

MARTINEZ, Maria Carolina[1] | ROSSI, Paola[2] | **CAPUCHINELLI, Agostina** [3] | MONCECCHI, Laura[4] | SCARAFIA, Leila[2]

HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO [1]; HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO [2]; HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO [3]; HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO [4]

Introducción y Objetivos: Staphylococcus aureus (SAU) coloniza normalmente piel; sin embargo, es un importante patógeno humano causante de enfermedades hospitalarias y de la comunidad. La colonización se define como la presencia, crecimiento y multiplicación de un microorganismo en un hospedero sin causar una respuesta inmune específica o infección. En el caso de Staphylococcus aureus, la colonización suele darse en las fosas nasales, principalmente en el vestíbulo nasal y en mayor proporción en el epitelio escamoso húmedo del tabique adyacente al orificio nasal. Sin embargo, se puede portar el microorganismo en otras partes del cuerpo como la piel, el periné, la nasofaringe y, con menor frecuencia, el tracto gastrointestinal, la vagina y las axilas. El objetivo fue conocer la frecuencia de colonización por cepas de Staphylococcus aureus de distintas zonas del cuerpo en pacientes ambulatorios e internados del Hospital Provincial de Rosario y su susceptibilidad a antibióticos.

Materiales y Métodos: Se tomaron hisopados nasales (HN), axilares (HA), faríngeos (HF) y de pliegue inguinal (HI), tanto para pacientes internados como ambulatorios que concurrieron al Hospital Provincial de Rosario en el periodo comprendido entre enero y diciembre de 2018. Se identificaron cepas de Staphylococcus aureus usando métodos clásicos y por metodología Malditof y se determinó la susceptibilidad a antibióticos de los aislamientos mediante el método de difusión por disco según los estándares del CLSI.

Resultados: En pacientes ambulatorios se realizaron un total de 70 HN, se encontraron 19 SAMS (27.1%) y 14 SAMR (20.0%); 9 HF 3 SAMS (33.3%) y 0 SAMR; 14 HA 2 SAMS (14.3%) y 0 SAMR; por último 17 HI 4 SAMS (19.0%) y 0 SAMR. En el caso de pacientes internados los resultados fueron: 161 HN, 20 SAMS (12.4%) y 19 SAMR (11.8%); 100 HF 9 SAMS (9.0%) y 6 SAMR (6.0%); 103 HA 2 SAMS (2.0%) y 3 SAMR (2.9%), por ultimo de 100 HI hubo 6 SAMS (6.0%) y 3 SAMR (3.0%). De todos los aislamientos estudiados solo 1 resulto resistente a Mupirocina.

Conclusiones: Tanto en pacientes ambulatorios como en internados observamos una mayor prevalencia de colonización a nivel de la mucosa nasal respecto del resto de las localizaciones estudiadas. Podemos concluir que es importante que en ningún caso se descarte la toma de muestra nasal para la búsqueda de portación de SAU. La monitorización y los cultivos de vigilancia epidemiológica en busca de portadores permiten conocer la verdadera dimensión del problema e implementar medidas de prevención y control de las infecciones. Aunque los estudios de colonización por SAU generalmente se centran en las fosas nasales, algunos autores afirman que las tasas de colonización por SAMR pueden aumentar si se tienen en cuenta factores como el número de sitios cultivados. Por lo tanto, en la toma de muestras se recomienda incluir no solo las fosas nasales, sino también otros lugares del cuerpo.

JU 038

0487 - PREVALENCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO RESISTENTE* EN MUCOSA NASAL Y RECTOVAGINAL DE EMBARAZADAS: ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS

DAVID, Agustina Soledad [1] | TOMEY, María Eugenia[1] | PAZ, Natalí[1] | BLESIO, Ayelén[1] | GALASSI, Mariela Verónica[2] | CASAGRANDE, Andrea Verónica[2] | LUCKAZIEWICK, Adriana[2] | CÁMPORA, Javier[1] | TORESANI, Inés[3] | GAMBANDÉ, Telma[1]

CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNIVERSIDAD ABIERTA INTERAMERICANA [1]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA, HOSPITAL DR. ALEJANDRO GUTIERREZ [2]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA, SANATORIO DE LA MUJER [3]

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus aureus (SA)* es considerado uno de los principales agentes patógenos para el humano. El principal impacto de este microorganismo se debe a que las cepas de *SA resistentes a la meticilina (MRSA)*, que tradicionalmente se encontraban limitadas al ámbito hospitalario, en años recientes han aparecido en la comunidad (CA-MRSA), colonizando mucosa nasal, rectal y vaginal, dificultando su tratamiento. La portación CA-MRSA es una importante causa de morbilidad y mortalidad en embarazadas, puérperas y neonatos, lo cual hace relevante el estudio del tema. El objetivo de este trabajo fué determinar la prevalencia de portación nasal y rectovaginal de SAMR en una población de embarazadas entre las semanas 35 y 37 de gestación, establecer el patrón de sensibilidad y resistencia antimicrobiana y las eventuales alternativas terapéuticas.

Materiales y Métodos: Estudio descriptivo, transversal, prospectivo y observacional. Previa firma del consentimiento informado se tomaron muestras de hisopados nasales y rectovaginales de 111 pacientes, 31 del laboratorio de Microbiología del Sanatorio de la Mujer (Rosario) y 80 del el Hospital Alejando Gutiérrez (Venado Tuerto, Santa Fé) desde noviembre 2018 hasta mayo de 2019.

Resultados: Del total de las 111 (100%) muestras analizadas, en 4 (3,6%) se aislaron SAMR. De los 31 hisopados tomados en el ámbito privado se halló la presencia de SAMR en 2 muestras de mucosa nasal (6,4%). En el ámbito público de las 80 muestras tomadas 2 fueron positivas para SAMR (2,5%), una en mucosa nasal, vaginal y rectal y otra solo en mucosa nasal y vaginal. En cuanto al antibiograma el 100% de los SAMR fue sensible a: rifampicina (RIF), ciprofloxacina (CIP), minociclina (MIN), y vancomicina (VAN), el 75 % a trimetoprima-sulfametoxasol (TMS), y solo el 25% a eritromicina (ERI) y clindamicina (CLI).

Conclusiones: Las infecciones por SA se incrementan día a día en embarazadas, puérperas y recién nacidos. La portación nasal y rectovaginal de esta bacteria constituye un factor de riesgo elevado para infecciones invasivas. De acuerdo al resultado del antibiograma TMS sería una buena alternativa terapéutica para el tratamiento empírico de infecciones por SAMR en la población general, pero no así en el embarazo, se lo descarta junto a RIF y CIP a pesar de su sensibilidad, por integrar la categoría de riesgo C de la FDA (Food and Drug Administration), por la misma razón se excluye MIN (categoría de riesgo D); VAN (categoría de riesgo B) podría usarse analizando el costo-beneficio siempre y cuando la embarazada permanezca en internación. ERI y CLI no serían una opción válida. Destacamos la importancia de determinar la prevalencia de portadores de SAMR y su respectiva sensibilidad antibiótica, para instaurar medidas de bioseguridad y así disminuir las complicaciones en el recién nacido. A su vez, el uso racional de antibióticos reduciría la aparición de cepas resistentes.

JU 039

0562 - PRIMER REPORTE DE *SEGNILIPARUS RUGOSUS* EN UNA PACIENTE CON DIAGNÓSTICO DE FIBROSIS QUÍSTICA EN ARGENTINA

BOTTIGLIERI, Marina[1] | **ZUCOTTI, Agostina** [1] | BERRUEZO, Fabiana[1] | VERCELLI, Beatriz[1] | PIÑERO, Ricardo[1] | PRIETO, Mónica[2]

CLÍNICA UNIVERSITARIA REINA FABIOLA [1]; INSTITUTO MALBRAN- BACTERIOLOGÍA ESPECIAL. [2]

Introducción: El género *Segniliparus* spp. fue descrito en 2005, familia *Segniliparaceae*, con dos especies,*S. rugosus* y *S. rotundus*. Son bacilos ácido-alcohol resistentes de rápido crecimiento (MRC) que pueden ser fácilmente confundidos con otras especies no cromogénicas. Hay muy pocas comunicaciones de aislados en pacientes con fibrosis quística (FQ) y en infecciones pulmonares de pacientes inmunocompetentes.

Caso Clínico: Mujer, 21 años, con diagnóstico de FQ, a los 3 meses de edad. Desde 2012 hasta 2018 presentó colonización con *S. aureus, Burkholderia cepacia, B. multivorans, A flavus, A fumigatus y Scedosporium* spp. En enero 2015 comenzó la colonización con MRC, considerado colonizante, no recibió tratamiento. A partir de esa fecha se observó una colonización intermitente cuya cronología fue la siguiente: enero 2015: desarrolló MRC sin identificación de género; marzo 2015 cultivos negativos hasta 2017. En mayo 2017 desarrolló MRC identificados por PCR como *M. abscessus*; junio 2017: MRC sin identificación de género, setiembre 2017 cultivos negativos hasta abril 2018 en que desarrolló MRC sin identificar género. En todos los casos en que no pudo identificarse el género, las cepas aisladas fueron sometidas a estudios fenotípicos, moleculares y MALDI-TOF. En junio 2018 por un empeoramiento del estado general, se realizó un nuevo estudio de esputo: ZN +++ y cultivo positivo a los 15 días. El servicio de Bacteriología Especial del I. Malbran identificó el aislamiento como *Segniliparus rugosus* mediante secuenciación parcial del gen rpoB y su identificación fue confirmada por secuenciación del gen 16SrARN. Los resultados de CIM por E-test utilizando puntos de corte del CLSI para Mycobacteria, *Nocardiae*, y otros Actinomycetes fueron: TMS >32, minociclina >256, ceftriazona >256, imipemem =0.25, linezolid>256 y ciprofloxacina=1; claritromicina no pudo ser interpretada. De acuerdo a los resultados de CIM, en febrero 2019 se inició tratamiento parenteral con claritromicina, ciprofloxacina, y tobramicina, continuando a la fecha. El cuadro clínico de la paciente mejoró significativamente y el cultivo de control fue positivo con baciloscopia de menos de un bacilo por campo.

Conclusiones: En nuestro caso el aislamiento de *Segniliparus* spp ocurrió después de una infección por *Mycobacterium abscessus*. Podría deberse a una predisposición a la adquisición de esta bacteria por la injuria pulmonar previa o a una identificación errónea debido a la similitud entre ambos. Dado que se trata de un patógeno inusual y emergente, la correlación entre resultados de CIM por E-test y microdilución en caldo es incierta. Existen dificultades para realizar las pruebas de sensibilidad de *S. rugosus*. En 2007 las guías IDSA sugirieron el uso de claritromicina combinado con amicacina, cefoxitina o imipenem durante 2 a 4 semanas.

JU 040

0493 - BACTERIEMIA TRANSITORIA POR *LEPTOTRICHIA TREVISANII* EN PACIENTE CON NEUTROPENIA FEBRIL

VISIC COTO, Luis Osvaldo | MONGE, Renata

HOSPITAL BRITÁNICO

Introducción: La *Leptotrichia trevisanii* es un bacilo Gram negativos no formador de esporas, anaerobio, en algunos casos aerotolerante, forma parte de la microbiota habitual de la cavidad oral. Infecciones como bacteriemia, periodontitis y endocarditis, suelen ocurrir en pacientes inmunocomprometidos. Los intentos de tipificación no son satisfactorios por lo cual es fundamental contar con las técnicas de identificación bacteriana de referencia o moleculares para identificar esta especie.

Caso Clínico: Pacientes de 81 años con Leucemia Linfocítica Cronica (LLC) y Síndrome Mielodisplasico (SMD) presenta neutropenia febril severa sin foco claro, mucositis y una lesión ulcerada en el dorso de la lengua. Se toman muestras de hemocultivo y se incuban en sistema automatizado BD BACTEC FX. Debido a que se trata de un paciente inmunosuprimido el protocolo de incubación se prolonga a 21 días, dando positivo al octavo día en 2/2 frascos. En coloración de Gram se observan bacilos Gram negativos largos y rectos que no se colorean uniformemente. A las 24 hs el crecimiento en agar sangre ovina es escaso. En las pruebas bioquímicas que se realizan como screening no aparece desarrollo, por lo cual se decide sembrar en anaerobiosis la muestra y derivar la placa de agar sangre con una pequeña pátina al Instituto Dr. C. Malbran para su identificación por espectroscopia de masa mediante sistema MALDI-TOF. Obteniendo como resultado *Leptotrichia trevisanii* con un score superior a 2. Dada la falta de estandarización de un método y puntos de corte para realizar pruebas de sensibilidad a antimicrobianos se decide hacer screening con disco en Mueller Hinton ovino incubando en anaerobiosis. Donde Piperazilina/tazobactam, Cefepime, Ceftazidima, Amoxicilina/clavulanico, Clindamicina y Tigeciclina presentaron halos de inhibición, mientras que Gentamicina, Eritromicina, Levofloxacina y Amikacina no presentaron halo. Para poder informase en la bacteriemia se realizan E-test de Meropenem y Cefotaxima que presentan grandes elipses de inhibición. Este hallazgo coincide con la bibliografía revisada respecto del tratamiento. El paciente recibió tratamiento con piperacillina/tazobactam para cubrir el foco bacteriémico y abarcar potenciales bacterias anaerobias que puedan estar causando otras infecciones. Los hemocultivos control posteriores resultaron ser negativos. El paciente continúa hasta la fecha tratando su LLC y SMD en el hospital.

Conclusiones: La potencial implicancia clínica que puede tener el rescate de *Leptotrichia trevisanii* en hemocultivos, debe ser considerada evaluando el contexto clínico del paciente. En este caso por tratarse de un paciente neutropenico febril con lesiones en cavidad oral, la posibilidad de translocación de bacterias desde las mucosas afectadas hacia el torrente sanguíneo es lo que motiva a pensar en la implicancia clínica del rescate en cultivo.

JU 041

0506 - EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE COLONIZACIÓN POR ENTEROCOCO VANCOMICINA RESISTENTE Y *KLEBSIELLA PNUEMONIAE* PRODUCTORA DE KPC-CARBAPENEMASA EN PACIENTES INTERNADOS EN UN HOSPITAL DE ROSARIO

ROSSI, Paola[1] | **MARZI, Sabrina Anabel** [2] | PIRES, Julia Maria[1] | BELLETTI, Ayelen[1] | FINUCCI, Baltasar[1] | CASABONNE, Cecilia[2] | CAPRILE, Luis[1] | GONZALEZ, Agustina[3]

HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO [1]; FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO [2]; FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS DE LA UNR / HOSPITAL PROVINCIAL DE ROSARIO [3]

Introducción y Objetivos: Las infecciones asociadas con el cuidado de la salud son consideradas un problema epidémico, controlable pero difícilmente erradicable. La detección precoz de pacientes colonizados por gérmenes multirresistentes (GMR) a través de cultivos de vigilancia epidemiológica y la implementación de medidas preventivas pueden reducir su incidencia. La colonización nosocomial es la portación de gérmenes adquiridos durante la internación. El tracto gastrointestinal es el principal reservorio de Enterococo Resistente a Vancomicina (EVR) y *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC-Carbapenemasa en el ambiente hospitalario por lo que las muestras más habituales para el cultivo de vigilancia de los mismos son el hisopado rectal o perianal y las muestras de heces. El objetivo fue conocer el tiempo de colonización por EVR y *K. pneumoniae* productora de KPC-Carbapenemasa de pacientes internados en sala general en un Hospital de Rosario y evaluar los posibles factores de riesgo en los pacientes colonizados.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 34 pacientes mayores de 18 años cursando internación en sala general de un hospital de tercer nivel, desde diciembre de 2018 hasta febrero de 2019, excluyendo pacientes que cursaron internación inmediata previa en Unidades de Cuidados Intensivos, pacientes que cursaron internación por patologías quirúrgicas, pacientes institucionalizados, pacientes que cursaron menos de 3 días de internación y pacientes que presentaron una colonización con gérmenes resistentes previo al ingreso en sala general. La búsqueda de EVR y *K. pneumoniae* productora de KPC-Carbapenemasa se realizó por hisopado anal conservados en medio de Stuart a los días 0, 3, 7 y 9 de internación. Las muestras fueron sembradas en medios cromogénico KPC y Bilis Esculina Azida. Los microorganismos sospechosos fueron identificados por técnica de MALDI-TOF (Bruker). Los mecanismos de resistencia fueron estudiados por métodos de sinergia con discos de papel y confirmados por detección del gen *bla kpc* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

para la búsqueda de KPC-carbapenemasa. Por otro lado, la búsqueda de EVR se realizó probando discos de Vancomicina por el método de Kirby Baguer.

Resultados: De los 34 pacientes estudiados, 3 presentaron hisopados positivos para los microorganismos estudiados. Se recuperaron dos aislamientos EVR, uno al tercer día y otro al séptimo día. Por otro lado, se aisló una *K. pneumoniae* productora de KPC-carbapenemasa al séptimo día. Los tres pacientes colonizados presentaron como factores de riesgo: instrumentaciones, tratamiento antibiótico previo, y uno de ellos internación en el último año.

Conclusiones: Se observó que el 91,2% de la población en estudio no presentó colonización por *K. pneumoniae* productora de KPC-Carbapenemasa y EVR durante el período evaluado. Analizando los pacientes colonizados podemos concluir que las internaciones breves son favorables para evitar colonización de los pacientes con GMR sumado al uso racional de antibióticos.

JU 042

0646 - PERFORMANCE DE LA PCR REAL TIME BD MAX TM PARA LA DETECCIÓN DE *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE* TOXIGÉNICO

WISNER, Barbara | SERRUTO, Gisela Ines | MAINETTI, Paula | BARRIOS, Ruben | ZARACHO, Juan | ZARATE, Mariela Soledad

SANATORIO GUEMES

Introducción y Objetivos: *Clostridiodes difficile* (*C. difficile*) es un bacilo Gram positivo anaerobio estricto, que causa entre 10 a 35% de los casos de diarrea asociada al uso de antibióticos. La infección por *C. difficile* se manifiesta habitualmente en forma de diarrea con síntomas que varían desde formas leves hasta episodios severos. Además, puede causar colitis pseudomembranosa e incluso complicaciones como la colitis fulminante, todas ellas englobadas en el término de enfermedades asociadas a *C. difficile* (EACD). La metodología que se utiliza habitualmente en los laboratorios clínicos para su detección es la inmunocromatografía (IC), que detecta la presencia del antígeno glutamato dehidrogenasa (GDH) presente en las cepas toxigénicas y no toxigénicas de *C difficile*, y toxinas A/B. Esta técnica posee un elevado valor predictivo negativo (VPN) (95-100%) y una baja sensibilidad (40-85%), por lo que las normas nacionales e internacionales recomiendan en aquellos casos con GDH positiva y toxina A y/o B negativas realizar un método molecular confirmatorio. El objetivo del trabajo fue la comparación de distintas metodologías para la detección de *C. difficile* toxigénico a partir de muestras de materia fecal diarreicas de pacientes internados con sospecha de EACD.

Materiales y Métodos: Se analizaron 183 muestras. Se realizó: 1- deteccion de toxina A/B por metodología PCR Real-Time BD MAXTM Cdiff. 2- detección de antígeno GDH y toxinas A/B por IC, utilizando el equipo comercial C. Diff Quick Check Complete. 3- cultivo en anaerobiosis y posterior identificación por metodología automatizada MALDI-TOF (Bruker Daltonics, MALDI Biotyper software versión 3.1).

Resultados: El 61,7% (113) de las muestras resultaron negativas por todas las metodologías y 9,8% (18) fueron positivas por los tres métodos. El 27,6 % (50) de las muestras, fueron positivas para GDH y negativas para la toxina, de las cuales 14,2 % (26) también resultaron ser negativas por PCR y 13,1 % (24) fueron positivas. Por IC se detectaron el 42,9% del total de muestras positivas. La Sensibilidad, especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y VPN para la detección de toxinas por IC y cultivo frente a PCR Real-Time BD MAXTM Cdiff fue de 44,2%, 88%; 99,3% 92,9%; 95%, 78,7% y 85,4%, 96,3%, respectivamente.

Conclusiones: La utilización de metodología molecular como método confirmatorio permitió un aumento del 13,1 % en la detección de *C. difficile* toxigénico. La PCR Real-Time BD MAXTM Cdiff presenta una S, E, VPP y VPN superior a los métodos evaluados. El óptimo desempeño de la PCR Real-Time BD MAXTM Cdiff junto con la IC permite en un tiempo de estudio de 3 hs un análisis integral de las EACD.

JU 043

0664 - INFECCIONES DE TEJIDOS BLANDOS PRODUCIDAS POR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*. REPORTE DE 6 CASOS.

NÚÑEZ, María Rosa | MIRANDA, Cristina

HOSPITAL PROVINCIAL NEUQUEN "DR. CASTRO RENDON"

Introducción: raramente se encuentra a *Streptococcus pneumoniae* (Spn) como agente etiológico de infecciones de piel y partes blandas (IPPB), ocurriendo con mayor incidencia en inmunocomprometidos. Causa del 5,5 al 9.7 % de la artritis séptica (AS) bacteriémica en niños y menos del 1% de la AS en adultos. Las

fascitis necrotizante (FN) por Spn es una entidad infrecuente, con una elevada mortalidad. El objetivo del trabajo es documentar a Spn como agente etiológico de IPPB y describir los casos clínicos.

Caso Clínico: Caso1: Niño de 2 años, sin antecedentes patológicos (AP), consulta por dolor, tumefacción, eritema, temperatura local e impotencia funcional. Antecedentes de trauma de tobillo 48 hs previas. Diagnóstico clínico y por imágenes (DiagCI): absceso de partes blandas (PB) en tobillo izquierdo. Se decide drenaje quirúrgico. Se aísla de PB Spn. Evolución favorable al tratamiento (EFT). Caso2: Mujer de 61 años, antecedentes de tuberculosis, mieloma múltiple, lesiones osteolíticas en columna vertebral. Cursando un cuadro de infección tipo influenza, consulta por tumefacción, dolor e impotencia en miembro inferior derecho (MID), presentando flictenas. DiagCI, FN de MID y AS de rodilla derecha. Cultivos de PB, hemocultivo (HC) 2/2 y líquido articular positivo a SPN. EFT. Caso3: Mujer de 52 años con antecedentes de nefrectomía derecha por hidronefrosis, hipertiroidismo, uso de corticoides. Consulta por dolor y tumefacción lumbar y abdominal. DiagCI: absceso de pulmón y de pared toraco abdominal derecho. Se realiza cirugía para drenaje. Cultivo de PB y HC 2/2 positivo a Spn. Tórpida evolución y óbito. Caso 4: Mujer de 38 años de edad, sin AP, ingresa en shock séptico. En MID edema, colecciones y flictenas serohemorrágicas. DiagCI: FN. Ingresa de urgencia a quirófano donde fallece. Cultivo de PB y HC 2/2 positivos a Spn. Caso 5: Mujer de 55 años, cirrosis Child-Pugh B por alcoholismo, consulta por dolor, tumefacción en MID, eritema, calor local. Antecedente de herida cortopunzante en la zona. DiagCI: absceso de PB y celulitis. Se realiza punción del absceso. Cultivo positivo Spn. EFT. Caso 6: Hombre de 78 años, colecistitis crónica, diabetes, con antecedentes de caída de propia altura, presenta dolor y hematoma en miembro superior derecho (MSD), lesiones necróticas en dorso de mano y brazo. DiagCI: fascitis del MSD con compromiso articular. Se realizan toilettes quirúrgicas. Cultivo de PB y HC 2/2 positivos a Spn. EFT.

Conclusiones: en nuestra serie de casos, se demuestra el rol indiscutible de Spn como agente etiológico de IPPB, con diversas presentaciones clínicas. Ninguno refirió enfermedad respiratoria previa que pudiera ser foco de infección; la mayoría presentó inmunocompromiso. Con respecto a la FN, su inicio es insidioso, de tórpida evolución, con fallo multiorgánico y necesidad de atención médica quirúrgica combinada y agresiva, con alta mortalidad (50%).

JU 044

0667 - CONTRIBUCIÓN AL DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES CON SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO (SUH) MEDIANTE ESTUDIO DE CONTACTOS

FIORENTINO, Gabriela [1] | NOCERA, Ruben[2] | DEZA, Natalia[3] | PUTZOLU, Karina[3] | CHINEN, Isabel[3] | SANTIAGO, Adriana[4] | EXENI, Ramón[4] | GERENNI, Raúl M[2] | PALERMO, Marina S[1]

INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL CONICET - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA [1]; LABORATORIO DEL HOSPITAL MUNICIPAL DEL NIÑO DE SAN JUSTO [2]; SERVICIO FISIOPATOGENIA, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS DR. CARLOS G. MALBRÁN [3]; DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA, HOSPITAL MUNICIPAL DEL NIÑO DE SAN JUSTO [4]

Introducción: El SUH es la complicación más severa de las infecciones por *E. coli* productor de toxina Shiga (Stx)(STEC). El diagnóstico bacteriológico se basa en el aislamiento y caracterización de las cepas STEC aisladas de la materia fecal (MF), y la detección de anticuerpos anti-LPS. Sin embargo en muchos pacientes no es posible lograr el aislamiento bacteriano. Con el objetivo de mejorar el diagnóstico y disminuir la transmisión, se realizó el estudio simultáneo de casos de SUH y sus contactos (quienes compartan al menos 4 hs, 5 días por semana con el paciente). Se procesaron muestras de MF de los casos, al momento del diagnóstico y/o internación, y de sus contactos. La MF se sembró en medio MacConkey Sorbitol (SMAC) para el cultivo diferencial de cepas STEC O157:H7 y no-O157. A partir del cultivo en placa se procedió a la identificación de la colonia STEC mediante PCR múltiplex *stx*$_1$, *stx*$_2$ y *rfb*$_{O157}$. Para el control de excreción se tomaron muestras de MF cada 72h hasta que dos muestras consecutivas fueran PCR negativas. Asimismo se determinó mediante Glyco- iELISA la presencia de anticuerpos anti LPS-O157, -145, y -O121 en el suero del paciente

Caso Clínico: Paciente de 2 años, masculino, internado el 25/03/2019 con cuadro clínico de SUH, con inicio de la diarrea sanguinolenta el 22/03. En la muestras de MF N°1 (25/3) y N°2 (28/03), se observó desarrollo bacteriano en SMAC, positivo para *stx*$_2$ y *rfb*$_{O157}$ por PCR. Se detectaron anticuerpos IgM e IgG anti-LPS O157 en el suero. Dado que las muestras N°3 (01/04) y N°4 (04/04) fueron PCR negativas, el tiempo de excreción fue de 9 días. Se estudiaron 7 contactos del paciente. En las muestras N°1 (28/03) y N°2 (03/04) de un hermano de 4 años, masculino, se obtuvieron cultivos positivos para *stx*$_2$ y *rfb*$_{O157}$ por PCR. Las muestras N°3 (07/04) y N°4 (12/04) fueron negativas. El tiempo de excreción resultó ser de 9 días. El contacto positivo no cursó diarrea sanguinolenta ni desarrolló SUH a pesar de estar dentro del grupo de riesgo. Se indicó la NO asistencia al jardín de infantes hasta su negativización y se alertó a la familia en cuanto a la conducta a seguir para evitar el contagio. Los aislamientos tanto del paciente como del contacto fueron identificados y caracterizados como: STEC O157:H7, *stx*$_2$*a/2c, eae* (+), *ehxA* (+), Biotipo C. La subtipificación por Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (XbaI-PFGE) mostró un patrón de 100% de similitud entre las distintas muestras del paciente y su hermano.

Conclusiones: Se detectó un brote familiar de infección por STEC a partir del estudio de un caso de SUH. Se observó diarrea en 3 de los 7 miembros estudiados, y uno con diarrea sanguinolenta evolucionó a SUH. Se aisló el agente causal en el paciente y en uno de los hermanos, confirmando identidad completa entre ambos

aislamientos. Se demuestra la importancia del estudio de los contactos ante un caso de SUH, tanto para contribuir al diagnóstico y/o limitar la extensión del brote a partir del alerta familiar.

JU 045

0543 - DETECCIÓN DE (*ESCHERICHIA COLI*) PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA (STEC) Y (*ESCHERICHIA COLI*) ENTEROPATÓGENA (EPEC) EN CASOS CLÍNICOS DE DIARREA DE LA POBLACIÓN INFANTIL DEL PARTIDO DE TANDIL

RUIZ, María Julia[1] | **ETCHEVERRIA, Analia** [1] | LISSARRAGUE, Sabina[2] | SPARO, Mónica[3] | **PADOLA, Nora Lia** [1]

LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, CIC, FCV, UNCPBA [1]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA HOSPITAL DE NIÑOS DR. DEBILIO BLANCO VILLEGAS. TANDIL [2]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA HOSPITAL DE NIÑOS DR. DEBILIO BLANCO VILLEGAS. TANDIL. [3]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* (*E. coli*) es una bacteria habitual en el intestino del ser humano y de otros animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de las cepas son comensales, algunas pueden causar una grave enfermedad de transmisión alimentaria, como los patotipos *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC) y *E. coli* enteropatógena (EPEC). STEC se caracteriza por producir toxinas (Stx1 y Stx2) y la proteína de adherencia intimina (eae) mientras EPEC se adhiere a través de la intimina, pero no produce toxinas. La infección por *E. coli* se transmite generalmente por consumo de agua o alimentos contaminados, como productos cárnicos poco cocidos y leche cruda. El principal síntoma es la diarrea. Las enfermedades diarreicas constituyen un problema de salud pública en el mundo, especialmente en los países en desarrollo, donde representan una importante causa de morbilidad y mortalidad en niños menores de 5 años. El objetivo de este estudio fue detectar STEC y EPEC en muestras fecales de casos de diarrea en niños.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron 113 muestras fecales del Laboratorio de Microbiología Clínica del Hospital de Niños Dr. Debilio Blanco Villegas de la ciudad de Tandil durante un período de 3 meses: enero, febrero y marzo de 2019. Las muestras se obtuvieron mediante hisopado de materia fecal de casos de diarreas en niños asistidos en el Hospital y fueron procesadas en el Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA. Los hisopos se cultivaron en un tubo Falcon con 20 ml de medio LB (Luria Bertani) durante 24 h en agitación a 37°C. Luego se realizó la extracción de ADN de la muestra colocando 10 µl del cultivo en 500 µl de agua estéril y llevando a ebullición durante 10 min. Se realizó la detección de los genes *usp, stx_1, stx_2* y *eae* mediante la técnica de PCR múltiple utilizando el termociclador Ivema T-17 para la determinación de STEC y EPEC. Se utilizó como control positivo la cepa de referencia *EDL933*.

Resultados: Del total de 113 muestras fecales de casos clínicos de diarrea, 97 (85,84%) muestras fueron positivas al gen *usp*, 19 (16,81%) muestras fueron EPEC positivas (*eae* +) y 2 (1,77%) fueron STEC positivas (stx_2+ *eae*+). Uno de los aislamientos STEC correspondió al serogrupo O145, que es el segundo en relevancia en casos de síndrome urémico hemolítico (SUH). Es importante destacar que el 80,5% correspondió a niños menores de 5 años y respecto al género, el 49% fue masculino y 51% fue femenino.

Conclusiones: La detección de los patotipos STEC y EPEC contribuye con la epidemiología de los patógenos productores de diarrea de importancia en la salud pública.

JU 046

0688 - MALDI-TOF-MS COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA EN SEPSIS

LEDESMA, Martín [1] | TODERO, María Florencia[2] | MONTESERIN, Johana[3] | PAUL, Roxana[3] | LÓPEZ, Beatriz[4] | SIMBOLI, Norberto[3] | VAY, Carlos[5] | ISTURIZ, Martín[2] | YOKOBORI, Noemí[3] | REARTE, Barbará[2]

LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA, CATEDRA DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA, FFYB-UBA-CONICET [1]; LABORATORIO DE FISIOLOGÍA DE LOS PROCESOS INFLAMATORIOS-IMEX-CONICET [2]; SERVICIO DE MICOBACTERIAS, INEI, ANLIS "C. G. MALBRÁN" [3]; DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA, INEI, ANLIS "C. G. MALBRÁN". [4]; LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA, CATEDRA DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA, FFYB-UBA [5]

Introducción y Objetivos: La sepsis continúa siendo una de las principales causas de muerte en unidades de terapia intensiva a nivel mundial. Este síndrome presenta una naturaleza bifásica con una fase proinflamatoria inicial seguida de una respuesta antiinflamatoria tardía, lo que condicionaría la terapéutica. Sin embargo, en la actualidad no existe un abordaje diagnóstico preciso de estas dos fases, por lo que en general se desconoce en qué estadio se encuentra el paciente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad de los perfiles proteicos del plasma utilizando la técnica MADI-TOF MS, para la determinación de estados pro o antiinflamatorios en la sepsis.

Materiales y Métodos: Se utilizaron modelos murinos desafiados con lipopolisacáridos emulando las diferentes fases de la sepsis (fase proinflamatoria (PRT, n=29) y antiinflamatoria (ANT, n=23)) frente a controles no tratados (Ctrl, n=25). Se determinaron en plasma citoquinas, variables hematológicas e inmunológicas. A su vez, se realizó la adquisición de dos espectros por cada plasma por la técnica de MALDI-TOF-MS en el rango 2-20 kDa (152 de espectros). Los espectros se procesaron con el software RStudio, se realizaron análisis no supervisados (Hierarchical K-means clustering) con los datos procesados luego de una categorización binaria y se entrenaron algoritmos de machine learning (división aleatoria del conjunto de datos, entrenamiento en uno de los grupos y predicción en el otro) para predecir los grupos PRT/ANT/Ctrl (exactitud (Ex), sensibilidad (S), especificidad (E)) a partir de las señales diferenciales (picos). Estos picos fueron asignados informáticamente por bases de datos: Expasy/TagIdent, uniprot, KEEG y STRING.

Resultados: La fase PRT se caracterizó por un bajo recuento de leucocitos y un aumento de citoquinas proinflamatorias como el TNF-α, mientras que en la fase ANT se observó una leucocitosis, aumento de corticosterona y bajo título de anticuerpos: [leucocitos (106/ml): Ctrl=6.6 ± 0.5; PRT= 1.9 ± 0.2*; ANT=11.2 ± 0.7 &; * & p <0,01]; [TNF-α (pg/ml): Ctrl=nd (no detectable); PRT = 1705 ± 297; p < 0.01]; [corticosterona (pg/ml) Ctrl=260 ± 40; ANT=1725 ± 218; p <0,01] y [título del anticuerpo (Ctrl= 100 ± 20%; ANT=0.4 ± 0.2%; p <0.05]. Los espectros generados por MALDI-TOF-MS analizados mediante la estrategia mencionada permitió una separación de los plasmas en tres clusters homogéneos (Within-cluster sum of squares= 100,7; 47,4; 45,6. Between-cluster sum of squares= 194,91. Cluster size= 35; 21; 21). Esto se relaciona, con una performance predictiva satisfactoria de los grupos (Random Forest: Ex=86%, S=88%, Es=80%). Además, permitió la asignación bioinformática de proteínas con picos consistente con los diferentes estadios de los grupos.

Conclusiones: Estos resultados muestran el potencial del uso de perfiles proteicos plasmáticos obtenidos por MALDI-TOF para la determinación rápida y económica del estadio inflamatorio durante la sepsis, método fácilmente transferible dada la amplia distribución de esta tecnología en centros de salud.

JU 047
0575 - MENINGOCOCEMIA BENIGNA DE LA COMUNIDAD EN PACIENTE ADULTO

ALMARÁ, Adriana | **BOLEAS, Mariana** | CALGARO, Ileana Maillén | MOBILIA, Liliana | PIEDRABUENA, Maria de Los Milagros | PRESTIFILIPPO, Ana María | VALENTI, Eugenia

HOSPITAL SAN MARTIN

Introducción: La infección causada por *NEISSERIA MENINGITIDIS* es la responsable de una gran proporción de cuadros de meningitis y sepsis en niños y adultos. La mayor parte de los casos que se producen en América se debe a los serogrupos B y C. Los pacientes con enfermedad meningocócica invasiva pueden presentarse con: bacteriemia sin shock (meningococemia leve aguda), bacteriemia con shock pero sin meningitis (meningococemia fulminante),bacteriemia con shock y meningitis, meningitis sola y meningococemia crónica benigna. Otra forma de clasificación considera la evolución y la gravedad del cuadro: benigna, crónica, aguda y fulminante. La meningococemia benigna, que también se denomina bacteriemia no evidente o bacteriemia autolimitada, es una forma rara (se observa solo en el cinco por ciento de los casos) que se ha descrito sobre todo en niños pequeños y reclutas jóvenes como un cuadro febril agudo y autolimitado con hemocultivos positivos para *NEISSERIA MENINGITIDIS* . A veces esa forma benigna recurre días o semanas después, en algunas ocasiones durante meses, y en esos casos se denomina meningococemia crónica. A diferencia de lo que sucede con las meningitis agudas, el noventa por ciento de los casos de meningococemia crónica se observan en adultos.

Caso Clínico: Paciente masculino de 62 años de edad, etilista, tabaquista y con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Ingresa a la guardia del hospital con un cuadro de tres días de evolución de fiebre, astenia, poliaquiuria, tos y leve confusión. Se toman dos muestras de sangre y orina para cultivo. Se trata empíricamente con Piperacilina-Tazobactam. El urocultivo resulta negativo y los hemocultivos se positivizan a las 20 horas de incubación en BacT ALERT. En la coloración de Gram se observan diplococos gram negativos que desarrollan como colonias medianas grisaseas mucosas, en agar sangre y agar chocolate. Se informa al servicio y se deriva la placa con condiciones de bioseguridad al servicio de Bacteriología especial del Instituto Malbrán para su correspondiente tipificación. Se identifica por MADI-TOF como *NEISSERIA MENINGITIDIS* y por PCR como grupo capsular C. El paciente evoluciona favorablemente y no presenta ningún otro síntoma de gravedad. Recibe el alta a los ocho días de internación.

Conclusiones: Tanto la meningococemia benigna como la crónica presentan una incidencia muy baja, y de esta última sólo se han descrito menos de doscientos cincuenta casos. Este caso se podría clasificar en alguna de estas dos categorías, dado que hubo ingresos anteriores del paciente al hospital con cuadros clínicos similares pero no existen registros microbioologicos de meningococemia. Los factores de riesgo del paciente pudieron ser determinantes para la infección meningococica que en este caso no tuvo las presentaciones clásicas ni las secuelas de la enfermedad descriptas en la literatura.

JU 048

0587 - POLYMYXIN B RESISTANCE IN KPC-PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* BLOODSTREAM ISOLATES FROM A TERTIARY CARE HOSPITAL IN SOUTH OF BRAZIL

ORLANDI BARTH, Patricia | CELESTINO DE SOUZA, Ândrea | COLLIONI CONSTANTE, Caroline | DE SOUZA MARTINS, Daniela | DA CUNHA WILLERS, Denise Maria | PIRES MACHADO, Denise | RUSCHEL PILGER DE OLIVEIRA, Katia | LUTZ, Larissa | WURDIG ROESCH, Eliane | CASTRO PEREIRA, Dariane | RODRIGUES AQUINO, Valério

UNIDADE DE MICROBIOLOGIA, SERVIÇO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Introduction and objectives: According to SENTRY Antimicrobial Surveillance Program in the last 20 years the more remarkable carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) increase rate was noted in Latin America, where CRE rates went from 0.8% to 6.4%. Consequently, the use of polymyxins as a therapeutic alternative for CRE infections has raised worldwide. The limited therapeutic options for these infections are a major challenge, particularly because the emergence of polymyxins resistance, since it is considered one of the last effective treatment options against CRE infections. The aim of this study is to evaluate the frequency of resistance to polymyxin B (PMB) in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* (KPC-KP) isolates recovered from blood cultures of patients attended to tertiary centre in south of Brazil.

Materials and methods: A retrospective study was conducted to evaluate clinical and microbiological data from patients with positive KPC-KP blood cultures from January 1, 2017 to March 31, 2019. The blood culture was processed in BacT/Alert© system (bioMérieux, France), bacteria identification in Vitek©MS system (bioMérieux,France), bacteria and PMB susceptibility test was performed by broth microdilution method, according to CLSI/EUCAST guidelines for 35 KPC-KP isolates (2018-2019). The presence of carbapenemase genes blaKPC, blaGES, blaNDM, blaIMP, blaOXA-48 and blaNDM was investigated by real-time multiplex PCR.

Results: A total of 106 CRE were isolated in blood culture in the period of study and the majority was *K.pneumoniae* (n=100, 94.3%). Of these 64% were KPC-KP; PMB MIC50/90 were 0.5/32 µg/mL. A total of 10 (29%) KPC-KP isolates exhibited resistance to PMB (MIC > 2µg/mL) while 71% were susceptible. When we evaluated death within 30 days, 24 (37.5%) patients with KPC-KP and 3 (27.3%) patients with KPC-KP resistant to PMB died. The prevalence of CRE, *K. pneumoniae* (KP) and KPC-KP in blood culture was 49, 46 (93.9%) and 24 (49%) in 2017 and 51, 49 (96%) KP and 37 (72.5%) KPC-KP in 2018, respectively.

Conclusions: Elevated rates of PMB-resistant KPC-KP bloodstream infections were found in our institution and the prevalence of KPC-KP increased (>23%) from 2017 to 2018, severely limiting the therapeutic options. Our results are in accordance with literature. In São Paulo-Brazil, a study described an increase in PMB resistance from 0% in 2011 to 27.1% in 2015 among KPC-KP isolates. To date, interruption of mgrB gene by insertion sequences or missense mutations is the most frequent mechanism of PMB resistance in KP in Brazil. Bacterial bloodstream infections are serious infections, specially due to KPC-KP isolates, on account of the association with significant mortality and elevated healthcare costs.

JU 049
0614 - INFECCIÓN DE VÁLVULA PROTÉSICA AÓRTICA POR *SALMONELLA ENTERICA*.

IMPA CONDORI, Anabel Rocio | SUJEMECKI, Alicia | MONGE, Renata

HOSPITAL BRITÁNICO

Introducción: *Salmonella entérica* es un bacilo gram negativo que causa habitualmente gastroenteritis aguda. El cuadro tiene presentación clínica benigna y autolimitada. Puede cursar con bacteriemia y desarrollar metástasis sépticas en pacientes con factores predisponentes o inmunosupresión. La endocarditis aparece en pacientes con alteraciones anatómicas, prótesis valvulares, personas mayores e inmunosuprimidos. La recuperación de *Salmonella entérica* en hemocultivos de pacientes con endocarditis es un hallazgo poco frecuente.

Caso Clínico: Paciente adulto de 71 años con antecedente de reemplazo de válvula protésica aórtica en 2013, consulta por síndrome febril agudo, temblores y escalofríos posteriores a un viaje a Brasil. En el análisis clínico de la sangre se obtienen 10500 leucocitos/mm^3. Se extraen 2 sets de 3 hemocultivos cada uno que son remitidos al servicio de microbiología para ser incubados en el equipo automatizado BD BACTEC FX. Entre 18 hs y 26 hs de incubación positivizan los 6 frascos de hemocultivos. En la coloración de gram se visualizan bacilos gram negativos. Directo de los frascos de hemocultivo se realizan pruebas screening de identificación y sensibilidad por métodos manuales y automatizado (sistema Phoenix BD). A las 24 hs desarrollan colonias de bacilos gram negativos con pruebas de tipificación compatibles con *Salmonella entérica*. El sistema automatizado identifica los aislados como *Salmonella entérica* con perfil de sensibilidad a ampicilina, ertapenem, imipenem, meropenen, ciprofloxacina, ceftriaxona, cefepime y trimetoprima sulfametoxazol. Se deriva el aislado al Centro de referencia Instituto Dr. C. G Malbran para su estudio por espectrometría de masa

Sistema Malditof que arroja con un escore mayor a 2 *Salmonella entérica*. Se realiza Ecocardiografía transesofágica donde se evidencia a nivel de la fibrosa mitro aórtica una imagen de bordes bien definidos y ecogenicidad heterogénea en su interior, compatible con absceso y vegetación de 14 mm. El paciente es operado de urgencia con reemplazo de válvula cardíaca y obtención de material purulento periprotésico que es remitido para análisis microbiológico. En el material purulento desarrolla el mismo aislado y perfil de sensibilidad respecto de los hemocultivos. El paciente recibe tratamiento con imipenem, amikacina y evoluciona favorablemente. Es dado de alta con tratamiento domiciliario recibiendo Ceftriaxona 1 gr cada 12 hs durante 42 días. Se realizan hemocultivos de control postoperatorio que resultaron negativos.

Conclusiones: La endocarditis por *Salmonella entérica* resulta un hallazgo clínico raro, de escasos reportes en bibliografía científica. El paciente evolucionó favorablemente luego de la cirugía de reemplazo de válvula dañada y aplicación de tratamiento antibiótico rápido, orientado según rescate bacteriano.

JU 050
0624 - *SALMONELLA* SER. PARATYPHI A, PRIMER AISLAMIENTO NACIONAL

TORTONE, Marcos [1] | BERNARDI, German[2] | BARTOLI, Claudia[1] | TACCHINI, María Del Mar[1] | ZAMPINI, Gustavo[1] | FIGUEROA, Myrian[1]

LABORTORIO DE MICROBIOLOGIA, HOSPITAL MISERICORDIA NUEVO SIGLO [1]; MEDICINA DEL VIAJERO, SERVICIO DE INFECTOLOGÍA, HOSPITAL MISERICORDIA NUEVO SIGLO [2]

Introducción: Tanto la fiebre tifoidea como la paratifoidea, son enfermedades infecciosas sistémicas causadas por *Salmonella* ser. Typhi y *Salmonella* ser.Paratyphi. A nivel mundial prevalece la *S.* ser. Typhi, sin embargo, en Asia está en aumento la infección por *S.* ser. Paratyphi, y en algunas regiones es la principal causa de fiebre entérica. Los síntomas son inespecíficos como fiebre de intensidad variable, cefalea, diarrea, estreñimiento, tos, náuseas, vómitos y dolor abdominal. La vía de transmisión es fecal-oral a través de aguas o alimentos contaminados. El periodo de incubación es 1 a 2 semanas, tiempo que varía en función del paciente y del inóculo bacteriano. Existen dos vacunas para la fiebre tifoidea, pero ninguna cubre la infección por *S. Paratyphi* y no tiene un 100% de efectividad sobre S. Typhi. Para el tratamiento los antibióticos de elección son cloranfenicol, ampicilina, cotrimoxazol, quinolonas, azitromicina y cefalosporinas de tercera generación.

Caso Clínico: Paciente de sexo masculino de 27 años, acude al Servicio de Asistencia al Viajero del Hospital Misericordia Nuevo Siglo para asesoramiento. Se le coloca vacuna de Fiebre amarilla, Doble adulto, VHB y VHA; para fiebre tifoidea no se administra. Realiza un viaje de 28 días a Tailandia y Myanmar, con escala en Barcelona. A la semana del arribo a Argentina, concurre al Servicio de Infectología por síndrome febril sin foco. Se le realizan los cuestionarios correspondientes post viaje y anamnesis, donde el paciente remite haber consumido comidas y bebidas típicas de los países visitados. Se solicitan hemocultivos y serología para VIH, VHB, VHC, Dengue y Brucelosis. La serología fue negativa, mientras que dos botellas de hemocultivos resultaron positivas para *Salmonella* ser. Paratyphi A resistente a ciprofloxacina y sensible a ampicilina, ceftriaxona, y trimetoprima/sulfametoxazol (TMS). Se confirma identificación en Instituto Malbrán. Se comienza tratamiento con TMS. El paciente persiste febril, se solicitan hemocultivos de control y serología nuevamente, aislándose *S.* Paratyphi. Se cambia el tratamiento a azitromicina. La serología para VIH resulta positiva, comenzando con antirretrovirales. Dos meses después, se realiza portación en materia fecal: negativa.

Conclusiones: Este caso es el primer aislamiento de *S.* ser. Paratyphi A en el país. En la actualidad se registraron tres similares. El auge de movimientos migratorios ha aumentado la incidencia de enfermedades infecciosas infrecuentes en nuestro medio. La fiebre entérica debe estar presente en el diagnóstico diferencial del síndrome febril en viajeros provenientes de zonas endémicas. En nuestro caso la fiebre persistente sería debido a la infección aguda por HIV y no a una posible resistencia a TMS. Es importante destacar la labor de asistencia al viajero con el fin de prevenir posibles infecciones y controlar brotes; como la búsqueda y sospecha desde el laboratorio y el trabajo conjunto en el equipo de salud.

JU 051
0700 - VIGILANCIA DESDE EL LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA DE CASOS DE *SALMONELLA* PARATYPHI B EN LA ARGENTINA

VIÑAS, María Rosa | CATALANO, Florencia | BRENGI, Silvina | PANAGÓPULO, Marcela | ALCAIN, Andrea | CAFFER, María Inés | MORONI, Mirian Patricia

SERVICIO DE ENTEROBACTERIAS - DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA - INEI ANLIS "DR. CARLOS G MALBRAN"

Introducción y Objetivos: *Salmonella enterica* ser. Paratyphi B (SPT) agente etiológico de la fiebre paratifoidea, es causal de gastroenteritis autolimitada como de graves infecciones sistémicas. En Argentina, suele aislarse en casos esporádicos. En noviembre del 2017 se registró el primer brote por esta serovariedad,

con casos de gastroenteritis y sepsis recuperados en hospitales de la ciudad de Salta. Los casos se notificaron en el Sistema Nacional de Vigilancia (SNVS). El objetivo del estudio fue analizar la emergencia de casos de fiebre paratifoidea en conjunto con casos esporádicos de SPT mediante su caracterización feno-genotípica y fortalecer su notificación en el SNVS.

Materiales y Métodos: Entre 1999 y 2019, el Laboratorio Nacional de Referencia recibió 86 aislamientos esporádicos (4 en el periodo del brote en Corrientes, Jujuy, Neuquén y Misiones) de varias provincias del país y 217 relacionados a brote en los últimos 2 años. El brote se reportó en dos periodos en la ciudad de Salta, excepto 3 casos en CABA de una familia que había viajado a Salta. El primer evento entre noviembre de 2017 a febrero de 2018 y el segundo desde septiembre de 2018 a enero de 2019. A pesar de realizarse su búsqueda en alimentos, aún no se logró identificar la fuente de infección. Los aislamientos se identificaron por pruebas bioquímicas y serológicas (esquema de Kauffmann-White-Le Minor). La fenotípia se complementó con la fermentación del d-tartrato para diferenciar los pathovares "entérico" (variante Java) y "sistémico" (tartrato+ y -, respectivamente). El estudio de epidemiología molecular para establecer relación genética se realizó en una selección de 125 aislamientos por Electroforesis en Campo Pulsado (PFGE) con la enzima de restricción XbaI (Red PulseNet) y BioNumerics v5.1. Se incorporaron los perfiles genéticos a la Base de Datos Nacional (BDN) de SPT.

Resultados: La caracterización de los aislamientos permitió completar la notificación de casos en el SNVS. Por la prueba de la fermentación del tartrato se identificaron 48 SPT variante Java (13 de brote) y 255 SPT "pathovar" sistémico (204 de brote). Por PFGE se determinó que todos los casos de brote agrupan dentro de 2 "clusters" prevalentes con 92,86 % de similitud entre sí (28 y 88 aislamientos), incluyendo 15 casos esporádicos, 3 del periodo de brote. El cuarto caso esporádico (Neuquén, 2019) resultó no relacionado y agrupó con otro caso de la provincia (2016). Otros 7 casos esporádicos mostraron diversidad de perfiles.

Conclusiones: Si bien se clasifica SPT en pathovar entérico y sistémico según su invasividad, no se correlacionó feno-genotípicamente en los casos estudiados. La BDN permitió tener conocimiento de la distribución de casos de SPT e identificar patrones prevalentes en eventos de brote y esporádicos. Además, se contribuyó en la mejora de la notificación por casos de sepsis en el SNVS. Por otra parte, a fines de profundizar la caracterización de los aislamientos circulantes se continuará el estudio de genes de virulencia y filogenético.

JU 052

0733 - PREVALENCIA DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL BACTERIANAS EN UN HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS

THEAUX, Clara | NOTARISTÉFANO, Guillermo | PRIETO, Natalia | ELSEGOOD, Camila | LÓPEZ, Lorena | SILVA, Anahí | SMITHUIS, Fernando | ARANDA, Claudio

HOSPITAL CARLOS G. DURAND

Introducción y Objetivos: Las infecciones de transmisión sexual (ITS) comprenden un grupo de patologías de etiología infecciosa diversa, relevantes desde la óptica de salud pública. Es frecuente que la prevalencia real de las ITS en diversas regiones se desconozca ya que pueden ser asintomáticas, las pruebas diagnósticas eficientes no siempre están disponibles y la vigilancia epidemiológica puede ser insuficiente. Por otro lado la coinfección entre distintos patógenos es frecuente. Nuestro objetivo es evaluar la prevalencia de las ITS más frecuentes en nuestra población: *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), y *Treponema pallidum* (agente etiológico de sífilis) en muestras remitidas a nuestro laboratorio, y determinar la presencia de coinfección entre ellas y VIH.

Materiales y Métodos: Estudio descriptivo retrospectivo. Se analizaron resultados de muestras analizadas para CT (268 muestras de orina de primer chorro (hombres) e hisopado vaginal o endocervical (mujeres) de septiembre 2018 a enero 2019; y durante 2018 para NG (688 muestras de exudado uretral, orina de primer chorro, espermocultivo e hisopado endocervical) y sífilis (8371 muestras). Para CT se realizó la PCR real time Chlamydia EC de TibMolBiol; para NG cultivo en medio de Thayer Martin modificado (Laboratorio Argentino) y Vitek2C, y para sífilis serología de screening con pruebas no treponémicas (VDRL) y confirmación con pruebas treponémicas (anticuerpos antiTp por CMIA). En casos positivos para alguna ITS, se investigó la solicitud de test de VIH.

Resultados: Para CT se encontraron 17 positivos en 268 pacientes (6,3% de prevalencia), siendo 7+/171 mujeres (4,1%) y 10+/97 hombres (10,3%). Para NG se encontraron 18 positivos en 688 pacientes (2,6% de prevalencia), siendo 0+/414 en mujeres (0%) y 18+/274 hombres (6,6%), todos en exudados uretrales. Analizando el primer y segundo semestre, se obtuvo una positividad de 1,3% (4/306) y 3,7% (14/382), respectivamente. En diagnóstico de sífilis se encontraron 308+/8371 totales (3,68% de prevalencia), siendo 162+/5384 mujeres (3,03%) y 146+/2986 hombres (4,94%). Se detectaron coinfecciones de CT con NG en 5 pacientes. Respecto de la coinfección con VIH, sólo 5 de los 17 pacientes positivos para CT fueron testeados para VIH (29%), y para NG se testearon 4 de los 18 pacientes positivos (22%), y en ningún caso se encontró

VIH+; para sífilis se testearon 165 de los 308 (54%), siendo 4 VIH+. El servicio que mayor número de individuos testeó para todas las ITS fue ginecología/obstetricia.

Conclusiones: Se halló una alta prevalencia para *C. trachomatis* respecto de lo calculado en otros centros, asociado a la diversidad de pacientes y especialidades del hospital. Para sífilis, la prevalencia global se asemeja a la reportada para la región y fue mayor en hombres; además resultó importante el aporte del testeo en embarazadas, que permite ofrecer un tratamiento oportuno. En pacientes con resultados positivos es recomendable la búsqueda de otras ITS como el VIH.

JU 053

0691 - MENINGITIS A *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* CON RESULTADO DE PCR NEGATIVA.

ALMARA, Adriana[1] | BOLEAS, Mariana[1] | CALGARO, Ileana Maillen[1] | **MOBILIA, Liliana** [1] | PIEDRABUENA, Maria de Los Milagros[2] | PRESTIFILIPPO, Ana María[1] | VALENTI, Eugenia[1]

HOSPITAL SAN MARTÍN [1]; HOSPITAL SAN MARTÍN [2]

Introducción: La meningitis tuberculosa presenta elevada mortalidad, llegando a ser del 30% en aquellos pacientes que reciben tratamiento óptimo. El factor más importante para el pronóstico es el diagnostico precoz e inicio temprano de tratamiento. Su diagnóstico se establece por una suma de elementos clínicos y de laboratorio. Buena parte de los casos son tratados empíricamente sin sustento microbiológico. Es la forma extrapulmonar de tuberculosis (TBC) de más complejo tratamiento y más pobre respuesta. El cultivo microbiológico sigue considerándose el estándar de oro para el diagnóstico, sin embargo es muy lento. La baciloscopía, por otro lado, es un método de fácil implementación, de bajo costo y rápido, pero de baja sensibilidad analítica. Debido a estos impedimentos técnicos, la detección molecular de *Mycobacterium tuberculosis* y de resistencia a rifampicina es de gran utilidad porque ha permitido un diagnóstico más rápido respecto del cultivo y más sensible respecto de la baciloscopía. En el año 2018 nuestro laboratorio tuvo acceso a técnicas de biología molecular para el diagnóstico de TBC meníngea.

Caso Clínico: Paciente masculino de 45 años etilista, que ingresa a la guardia por cefalea, con desorientación y fiebre. De acuerdo a los análisis clínicos y radiológicos el diagnostico presuntivo es de TBC miliar. Se realizan cultivos de esputo y liquido cefalorraquídeo con resultados negativos para el bacteriológico y las baciloscopía. Se solicita además PCR para TBC y virus, las cuales se informan como negativas a los 5 días de realizadas. Se inicia tratamiento empírico para meningitis con ampicilina, ceftriaxona, triple asociación mas etambutol y aciclovir. El paciente comienza a evolucionar favorablemente. El seguimiento del cultivo para TBC muestra desarrollo de 5 colonias compatibles con micobacterias a los 20 días de incubación. Se realiza detección rápida por inmunocromatografía informándose como *Mycobacterium tuberculosis*. A los dos meses se informan las pruebas de sensiblidad dando sensible a rifampicina e isoniacida.

Conclusiones: Si bien el advenimiento de las pruebas de biología molecular son una herramienta eficaz para el diagnóstico rápido, manejo, pronóstico de la enfermedad y evitar la transmisión de la infección; un resultado negativo de PCR no permite excluir o descartar TBC, especialmente cuando la sospecha es alta y el paciente es de alto riesgo, lo que determina igualmente una decisión clínica de tratamiento empírico. En este caso, el resultado final del cultivo es el que confirma o descarta el diagnóstico.

JU 054

0847 - UTILIDAD DE LA ESPECTROMETRIA DE MASA EN LA IDENTIFICACION DE UROPATOGENOS A PARTIR DE LA MUESTRA

NASTRO, Marcela | **HEGER, Facundo** | RODRIGUEZ, Carlos H | LEGARIA, María Cristina | VAY, Carlos A | FAMIGLIETTI, Angela

LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA, DTO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA, HOSPITAL DE CLINICAS JSM. FFYB.UBA

Introducción y Objetivos: el cultivo es el método de referencia para el diagnóstico de la infección urinaria, sin embargo, se requiere al menos 24-48 hs para la identificación (ID) del microorganismo a partir de la colonia. La identificación preliminar mediante espectrometría de masa a partir de la muestra directa acorta el tiempo de identificación del microorganismo en forma significativa Objetivo: evaluar la utilidad de la espectrometría de masa para la identificación de uropatogenos directamente desde la muestra de orina

Materiales y Métodos: durante el periodo enero-mayo del 2019 se seleccionaron un total de 100 muestras de orina pertenecientes a pacientes atendidos en el Hospital de Clínicas José de San Martin. Se comparó la ID mediante el cultivo convencional (siembra en agar CLDE y posterior identificación mediante Malditof-MS, BD) con la ID mediante una adaptación del protocolo publicado por Zboromyrska y col a partir de una alícuota de la muestra de orina. El criterio de selección incluyo muestras con sedimento patológico y con presencia de

gérmenes. La interpretación de los valores de score fue la siguiente: score > 2: ID aceptable a nivel de género y especie, score: 1.7-1.9: ID aceptable a nivel de género y score < 1.7: ID no confiable.

Resultados: la distribución de las muestras seleccionadas fue: muestras positivas monomicrobianas: 81, muestras positivas polimicrobianas: 6, muestras negativas: 13. La sensibilidad del método de detección por Malditof directo fue del 90% mientras que la especificidad fue del 100%. En 74/81 muestras positivas la ID directa coincidió con la ID del cultivo y se obtuvieron valores de score aceptables para ID de género y especie. Se identificó un germen anaerobio (Peptostreptococcus anaerobius) con un score de 2.061 (aceptable para ID de género y especie). Se obtuvieron dos resultados discordantes: cultivo positivo para *E. coli* e ID directa *K. oxytoca* y cultivo positivo para *K. pneumoniae* e ID directa *K. oxytoca*, ambos casos con valores de score mayores a 2. En el caso de las muestras polimicrobianas, la ID directa en general correspondió al microorganismo que se encontraba en mayor recuento. Los 7 cultivos positivos que no fueron identificados por la técnica directa correspondieron a: *Achromobacter xylosoxidans*, *Streptococcus anginosus*, *Gardnerella vaginalis*, *K. pneumoniae* [2] y *E. coli* [2].

Conclusiones: la ID directa de uropatógenos (en su mayoría bacilos Gram negativos con recuentos altos) representa otra utilidad de la espectrometría de masa en el laboratorio de microbiología, la cual en determinadas situaciones clínicas contribuye al diagnóstico rápido de la infección y a la implementación del tratamiento empírico adecuado.

JU 055

0848 - CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE AISLAMIENTOS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* HIPERMUCOVISCOSA ASOCIADOS A ABSCESOS HEPÁTICOS

RINAUDO, Mariángel [1] | MARCHIARO, Patricia[1] | NANNINI, Esteban[2] | LAHITTE, Matías[3] | SCAPELLATTO, Pablo Gustavo[4] | NEIMAROVSKY, Corina[5] | ZYLBERMAN, Marcelo[6] | VILA, Andrea[7] | VIALE, Alejandro[1] | LIMANSKY, Adriana[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) [1]; FAC CS MEDICAS, UNIVNAC ROSARIO /IDICER (CONICET) [2]; SANATORIO BRITÁNICO [3]; HOSPITAL SANTOJANNI [4]; HOSPITAL ITALIANO [5]; HOSPITAL ARGERICH [6]; HOSPITAL ITALIANO [7]

Introducción y Objetivos: *Klebsiella pneumoniae* hipermucoviscosa *Kpnhmv* ha emergido como una variante virulenta de esta especie bacteriana, generalmente asociada a abscesos hepáticos, sepsis, meningitis metastásica y endoftalmitis. Al presente, cepas de *Kpnhmv* serotipo K1 y en menor medida serotipo K2 han sido asociadas a abscesos hepáticos e infecciones metastásicas. El objetivo ha sido la caracterización molecular de aislamientos de *Kpnhmv* recuperados de abscesos hepáticos de pacientes internados en diferentes centros de salud del país, incluyendo asimismo la identificación de sus genes de virulencia.

Materiales y Métodos: Se incluyeron 6 aislamientos clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de 4 centros de salud, recuperados entre 2015-2018, que presentaron prueba de filancia positiva (>5 mm). Los secuenciotipos (ST) de cada cepa han sido caracterizados según la amplificación/secuenciación de múltiples alelos (MLST), y la identidad clonal según PCR con oligonucleótidos degenerados (OD-PCR). Se evaluaron como genes de virulencia a wzc_{K1} y a $orf10_{K2}$, codificantes del polisacárido capsular de cepas K1 y K2, respectivamente; al gen *magA*, codificante de una proteína asociada a mucoviscosidad y restringido al serotipo K1; así como a *rmpA*, codificante de un regulador del fenotipo mucoide, reportado en ambos serotipos.

Resultados: Los resultados mostraron que 3 de las cepas presentan wzc_{K1} y por tanto serotipo K1; mientras que las 3 restantes exhiben $orf10_{K2}$, y por tanto serotipo K2. La caracterización de los genes asociados al fenotipo hipermucoviscoso mostró la presencia de *rmpA* para las 6 cepas; mientras que *magA* fue positivo en 1 de las 3 cepas que exhiben serotipo K1. Este resultado muestra a *rmpA* como un marcador de mayor sensibilidad para la detección de cepas con el fenotipo de interés. Dos cepas con serotipo K1 mostraron pertenecer al ST23, secuenciotipo asociado al síndrome de absceso hepático por *Kpnhmv*. Sin embargo, se halló una cepa K1 con un ST previamente no asociado a *Kpnhmv*, como es el ST571, correspondiente a otro complejo clonal. La evaluación de pacientes con *Kpnhmv* serotipo K1 con y sin metástasis mostró que en el caso de pacientes con metástasis (n:3) las *Kpnhmv* correspondieron a ST23, mientras que la restante, de un paciente sin metástasis, correspondió a ST571, sugiriendo mayor virulencia del ST23. Al presente, una de las cepas K2, recuperada de un paciente con metástasis (en pulmón y pleura) se la caracterizó como ST86, el cual ha sido reportado como causante de síndrome de absceso hepático con graves complicaciones. Por último, OD-PCR mostró identidad clonal para dos cepas K1 con ST 23, derivadas de diferentes hospitales, sugiriendo diseminación clonal de la misma. Sin embargo, la cepa K1 ST571 no muestra identidad clonal con las anteriores. Por su lado, las 3 cepas serotipo K2 corresponden a tres diferentes clones.

Conclusiones: La caracterización molecular aporta datos diagnósticos y epidemiológicos de utilidad para el reconocimiento de cepas virulentas asociadas a abscesos hepáticos y/u otras patologías. Esto permite efectuar un tratamiento temprano, evitando las complicaciones como focos infecciosos a distancia, que impactan significativamente en la morbilidad. Este es el primer trabajo multicéntrico en Argentina que caracteriza molecularmente a las cepas de *Kpnhmv* causante de esta enfermedad emergente en el mundo.

JU 056

0716 - NEUMONIA POR *RHODOCOCCUS EQUI* EN UN PACIENTE CON INMUNODEFICICENCIA ADQUIRIDA

FERNANDEZ, Stella Maris | **ALE, Ana Carolina** | ABUD, Cristina Elizabeth | GARNIER, Isabel Cristina | TURPO, Melisa | YEPES, Juan Manuel | CHAGRA, Maria Florencia | TOMAS, Gonzalo

HOSPITAL DE CLÍNICAS PTE. DR. NICOLAS AVELLANEDA

Introducción: *Rhodococcus equi* es un patógeno ambiental que causa infección zoonótica en animales de pastoreo, principalmente equinos. Raramente afecta a humanos inmunocompetentes pero puede ser un patógeno oportunista en pacientes inmunocomprometidos sobre todo en pacientes HIV/SIDA. Habitualmente causa infección respiratoria de evolución subaguda pudiendo causar infección diseminada.

Caso Clínico: Paciente de sexo masculino de 48 años de edad que consultó por tos con expectoración mucopurulenta, hemoptoica, fiebre nocturna y pérdida de peso de un mes de evolución. Presentó regular estado general, palidez, adelgazamiento con hipotrofia muscular, muget oral. La radiografía presentó infiltrado izquierdo con broncograma aéreo y cavitación. El paciente refirió que la zona donde vivía había caballos sueltos y ocasionalmente tenia contacto con ellos. El laboratorio presentó anemia, leucocitos 9600 mm^3 con 85% de neutrófilos, VSG 95 mm, PCR 48 mg/l. Se realizó diagnóstico de infección por HIV mediante Elisa 4ª generación, con CD4 91(8%) y carga viral 332000 c/m (log 5.52), sin coinfecciónes. Se realizó hemocultivos automatizados buscando micobacterias, hongos y gérmenes comunes resultaron negativos. No se detectó Histoplasma (PCR en sangre), ni antigenemia para *Criptococcus neoformans*. En el Bal (lavado broncoalverolar) se efectuó cultivo micológico, BAAR y cultivo para micobacterias resultaron negativos. En el cultivo bacteriológico de BAL en la tinción de Gram se observó formas cocoides gram positiva. A los 4 días desarrolló colonias redondas, irregulares y mucosas de color rosado, catalasa positiva, oxidasa positiva y factor equi positivo. Se realizó identificación con MALDI-TOF que informó *R. equi*. No se informó antibiograma por falta de puntos de cortes del CLSI. Inició tratamiento empírico con ampicilina/sulbactam y ciprofloxacina y luego se rotó de acuerdo al cultivo bacteriológico con TMP/S.

Conclusiones: En pacientes con HIV en estadío avanzado, que presentan infección respiratoria con cavitaciones en estudios radiológicos se debe considerar *R. equi* en el diagnóstico diferencial con otros patógenos como *M. tuberculosis*, hongos, nocardia. Es importante el reconocimiento en el laboratorio y que se realicen las pruebas necesarias para su identificación. Debe instaurarse bioseguridad en el manejo del cultivo.

JU 057

0720 - DINÁMICA DE LOS MICROORGANISMOS Y LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS EN LAS NEUMONÍAS ASOCIADAS A RESPIRADOR, NAR (1993-2018)

GARCÍA, Susana [1] | RODRIGUEZ, Carlos Hernan[1] | NASTRO, Marcela[1] | WEYLAND, Beatríz[1] | GUZMAN, Glenda Mabel[1] | PERAZZI, Beatriz Elizabeth[1] | IRRAZÁBAL, Célica[2] | CAPDEVILA, Abelardo[2] | LUNA, Carlos[3] | VAY, Carlos[1] | FAMIGLIETTI, Ángela[1]

LAB. DE BACTERIOLOGÍA. DEPTO. BIOQUÍMICA CLÍNICA. INFIBIOC. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA.UBA [1]; UNIDAD DE TERAPIA INTENSIVA. HOSPITAL DE CLÍNICAS. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]; DIVISIÓN NEUMONOLOGÍA. HOSPITAL DE CLÍNICAS. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [3]

Introducción y Objetivos: Los pacientes intubados y ventilados colonizan su vía aérea y pueden desarrollar neumonías asociadas a respirador (NAR) en el curso de su internación. Las medidas preventivas reducen su incidencia, pero no la evitan.

Materiales y Métodos: Se estudiaron retrospectivamente todos los lavados broncoalveolares (LBA) entre 1993 y 2018 obtenidos de pacientes con diagnóstico de NAR. Para ello se analizaron las muestras con recuento $=10^4$ UFC/ml. La identificación de los microorganismos se realizó por metodología convencional y a partir del año 2015 por espectrometría de masas (Maldi Tof) y la prueba de sensibilidad antibiótica (PSA) por el método semicuantitativo de Marcenac y col. y a partir de Octubre de 2012 por métodos automatizados [VITEK-2 y Phoenix -100]. Se comparó la frecuencia de aislamientos y sensibilidad a los ATM en diferentes períodos. Se usó la prueba de Chi2 para las comparaciones, con un nivel de significación a = 0,05.

Resultados: Se analizaron 769 episodios de neumonías en 727 pacientes durante 25 años. Variaron significativamente las frecuencias de *P. aeruginosa* (p=0,003) y los aerobios Gram (-) (p<0,001), incluyendo *K. pneumoniae* (p= 0,012) que aumentaron en el último período, mientras que *Acinetobacter* spp (p=0,005) y *S. aureus* (p<0,001) disminuyeron. La resistencia a oxacilina en *S. aureus* disminuyó de 93,3% en el período 2012-16 a 40,7% en el período 2017-18 (p=0,015). En Acinetobacter spp los aislamientos solamente sensibles a colistina aumentaron de 34,6% en el período 1999-2003 a 81% en 2017-18 (p<0,001). En *K.pneumoniae* la resistencia a carbapenemes mediada por KPC se observó a partir del año 2012 con 37,5% de resistencia (2012-

2016) y en el último período fue 38,6%. *Pseudomonas aeruginosa* solamente sensible a colistina aumentó de 5,3% en el período 1999-2003 a 25,4% en el período 2017-2018 (p< 0,001).

Conclusiones: Se observó una variación en la frecuencia de los microorganismos predominantes en las NAR pero con un aumento significativo de la MDR y XDR, excepto en *S. aureus* que disminuyó su incidencia y la oxacilino-resistencia.

JU 058
0731 - SEPSIS POR *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN UN PACIENTE ADULTO

FERNÁNDEZ, Stella Maris | **ALE, Ana Carolina** | ABUD, Cristina Elizabeth | GARNIER, Isabel Cristina | TURPO, Melisa | YEPES, Juan Manuel | CHAGRA, María Florencia | TOMAS, Gonzalo

HOSPITAL DE CLÍNICAS PTE. DR. NICOLAS AVELLANEDA

Introducción: Estreptococo grupo B *Streptococcus agalactiae* es un tradicional patógeno neonatal y también es causa de morbilidad y mortalidad en adulto mayores con enfermedad de base. Se registra un aumento de incidencia de la enfermedad en la bibliografía, por lo cual nos parece importante un caso de sepsis severa con focos de neumonía y celulitis en un paciente adulto

Caso Clínico: Paciente con antecedentes de obesidad mórbida, diabetes tipo 2, sin adherencia al tratamiento, hipertensión arterial, EPOC, que realizó varias consultas en guardia 10 días antes de su internación por dolor lumbar, sudoración profusa, puño percusión positiva e hiperglucemia. En los exámenes complementarios se detectó sedimento patológico con leucocituria, hematuria, piuria, sin cultivo. El paciente se retiró de la guardia después de hidratación, analgesia y antibioticoterapia (TMP/s). Completó tratamiento antibiótico, no presentó mejoría por lo cual consultó nuevamente, se lo ingresó a terapia intensiva con cuadro de shock séptico con deterioro del sensorio, deshidratación, dificultad respiratoria y dolor torácico. Se registró un cuadro de neumonía basal izquierda con derrame pleural acompañado con severa infección de partes blandas presentó placa eritematosa indurada caliente de 15 x 15 cm en el cuadrante inferior izquierdo de la región pectoral y lateral izquierda de toráx. Se observó ulceras y ampollas en miembros inferiores. Se colocó en ARM. Se realizó avenamiento pleural izquierdo, dando un débito de líquido purulento. La TAC de tórax mostró áreas de consolidación pulmonar basal izquierda. Se realizó hemocultivos automatizados dando en las 2 muestras St. Agalactiae confirmados por sistema PCR multiplex filmArray. Se cultivó líquido pleural y colección de pared drenada por cirugía se aisló *S. agalactiae*. Se estudió la sensibilidad del germen dando: Ampicilina sensible (CIM ≤ 0,25 ug/ml), eritromicina sensible (CIM ≤ 0,25 ug/ml), clindamicina sensible (CIM ≤ 0,25 ug/ml), vancomicina sensible (CIM ≤ 0,5 ug/ml). Se administró tratamiento empírico, vancomicina-meropenem, luego se rotó a tratamiento específico según antibiograma. Debido a que el paciente requirió cirugía de decorticación pleural de alta complejidad, se derivó a otra institución

Conclusiones: Las infecciones por *S. agalactiae* son un problema creciente en adultos mayores, que pueden evolucionar a sepsis severas. También se presentan en paciente con enfermedades subyacentes como DBT Mellitus, ACV, cáncer de mama, úlcera de decúbito, vejiga neurogénica y cirrosis. La forma de presentación más frecuentes es supuración de partes blandas, neumonías seguidas por osteoartritis e infección urinaria, se puede presentar sepsis con menor frecuencia, endocarditis y meningitis. El tratamiento más adecuado es penicilina o ampicilina, más aminoglucosidos. El reconocimiento temprano de la infección, la búsqueda de focos, la terapia antimicrobiana adecuada, junto con la intervención quirúrgica cuando esté indicada, son esenciales para un buen manejo de la enfermedad.

JU 059
0863 - VARIACIÓN DE LA GRELINA SÉRICA Y EL PESO CORPORAL LUEGO DE LA ERRADICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR *HELICOBACTER PYLORI*

MANTERO, Paula [1] | MARCHESI OLID, Liliana[2] | GIACOMANTONE, Candela[3] | CORTI, Rodolfo[3] | CABANNE, Ana María[4] | ZUBILLAGA, Marcela[5] | JANJETIC, Mariana[5] | GOLDMAN, Cinthia[5]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, CÁTEDRA DE FÍSICA [1]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE MEDICINA, ESCUELA DE NUTRICIÓN [2]; HOSPITAL DE GASTROENTEROLOGÍA "DR CARLOS BONORINO UDAONDO", SECCIÓN ESÓFAGO-ESTÓMAGO [3]; HOSPITAL DE GASTROENTEROLOGÍA "DR CARLOS BONORINO UDAONDO", UNIDAD PATOLOGÍA [4]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, CÁTEDRA DE FÍSICA - CONICET [5]

Introducción y Objetivos: La infección por *Helicobacter pylori* está asociada con una menor concentración de grelina sérica. Esta hormona orexígena es producida principalmente en la mucosa gástrica e interviene en la regulación del apetito. El objetivo de nuestro estudio consistió en evaluar la variación de la grelina sérica y el peso corporal antes y después de la erradicación de la infección por *H. pylori*.

Materiales y Métodos: Participaron pacientes adultos con indicación de videoendoscopía digestiva alta, en los cuales se evaluó la ingesta alimentaria, se determinó el peso corporal, la concentración de grelina sérica y se realizó análisis histopatológico de biopsias gástricas para diagnóstico de la infección. Los pacientes infectados recibieron tratamiento combinado [(levofloxacina 500 mg (1/d, 10 d), amoxicilina 1 g (2/d, 10 d) y pantoprazol 40 mg (2/d, 30 d)] y fueron controlados luego de 12 semanas, donde se evaluaron las mismas variables que al inicio del estudio. Utilizamos a modo de control al grupo de pacientes que no erradicó la infección. Se aplicaron los tests estadísticos de Mann Whitney, Wilcoxon y correlación de Spearman.

Resultados: Se incluyeron 47 pacientes infectados por *H. pylori*, 28 (59,6%) de los cuales erradicaron la infección. Se observó un aumento de peso en el 71.4% de los pacientes erradicados y en el 68.4% de los no erradicados, no habiendo sido esta diferencia estadísticamente significativa (P=0,83). El análisis pareado del peso al inicio y luego del tratamiento reveló un aumento significativo de peso en ambos grupos (P=0,02) y (P=0,03), respectivamente; sin embargo, las medianas de variación de peso no difirieron entre grupos (P=0.71). La ingesta alimentaria no difirió significativamente antes y después del tratamiento. La concentración de grelina disminuyó significativamente solo en los pacientes que erradicaron la infección (345,0pg/mL (RIQ;273,0-517,7) antes vs. 298,5pg/mL (RIQ;251,0-383,5) después de la erradicación, P=0,0007), no habiendo diferido en los que no erradicaron (P=0.11). La severidad de la patología gástrica disminuyó significativamente sólo en el grupo erradicado (P=0.00001). Se observó una correlación inversa entre la variación porcentual de grelina respecto del basal y la variación porcentual del peso respecto del basal en el grupo de pacientes erradicados (r=-0.41; P=0.04), mientras que en el grupo que no erradicó la infección no se obtuvo correlación entre dichas variables (r=-0.18; P=0.47).

Conclusiones: Nuestro estudio reveló un aumento en el peso corporal luego del tratamiento antibiótico, independientemente de su efectividad; sin embargo, solo se observó una disminución significativa en la grelina sérica en los pacientes que erradicaron la infección por *H. pylori*, en los cuales también se encontró una mejoría en el grado de patología gástrica. Dado que la alteración de la microbiota intestinal luego del tratamiento antibiótico podría estar asociada a una variación en el peso corporal, esta variable deberá ser investigada en futuros estudios.

JU 060

0741 - ESTUDIO DE COLONIZACIÓN POR ESTREPTOCOCO GRUPO B EN EMBARAZADAS DE 35 - 37 SEMANAS DE GESTACIÓN EN EL PERIODO 2017-2018

CABALLERO, Verónica Laura | FLORES, Jessica Alejandra

HOSPITAL DE LA MADRE Y EL NIÑO. INMACULADA CONCEPCIÓN DE MARÍA

Introducción y Objetivos: El Estreptococo beta hemolítico del Grupo B (EGB), también llamado *Streptococcus agalactiae*, puede encontrarse como colonizante en el aparato digestivo y en el aparato genital de las mujeres. En la embarazada puede ser causa de infección urinaria, corioamnionitis y endometritis. En neonatos es un patógeno importante de neumonía, sepsis y meningitis con alto índice de mortalidad, es la primera causa de infecciones severas invasivas en el recién nacido y en lactantes menores de tres meses. Nuestros objetivos fueron determinar en un período de dos años el aumento porcentual de aislamientos de *S. agalactiae* en embarazadas entre la semana 35-37 de gestación y establecer la confirmación de los resultados obtenidos por el método agar cromogénico chromID® Strepto B con VITEK2-compact (VT 2C®).

Materiales y Métodos: Estudio observacional, retrospectivo en el periodo 2017-2018 de mujeres embarazadas para la detección de EGB en un hospital agudo materno infantil de tercer nivel. Se tomó muestras de hisopado vaginal-anal (sin colocación de espéculo). Cada muestra se colocó en 2 ml de caldo Todd Hewitt, e incubó por 18-24hs a 35ºC. Se subcultivó en chromID® Strepto B y luego se incubó a 35ºC durante 48hs. Las colonias positivas obtenidas fueron confirmadas mediante el sistema VT 2C® e identificadas como *S. agalactiae*.

Resultados: Del total de muestras estudiadas (2017 n: 878, 2018 n: 840) fueron positivas 159 (18%) en 2017 y 284(34%) en 2018 para EGB en mujeres embarazadas. Considerando los aislamientos positivos se observó un aumento porcentual del 79% en el período de dos años. Las cepas positivas identificadas como S. agalactiae por el método chromID® Strepto B fueron confirmadas por el sistema VT 2C®.

Conclusiones: Los resultados revelan un aumento porcentual del 79% en el año 2018 con respecto al 2017 de mujeres embarazadas positivas para *S. agalactiae*. Se confirmó las cepas compatibles para EGB obtenidas mediante el método chromID® Strepto B con el sistema VT 2C®. Destacamos la importancia de la detección temprana de la colonización de *S. agalactiae* para instaurar un tratamiento profiláctico y prevenir complicaciones gineco-obstetricas e infección en el neonato.

JU 061

0748 - PREVALENCIA DE *ACINETOBACTER* SPP EN PACIENTES DEL HEVB PERIODO 2017-2018 LA RIOJA

NUÑEZ, Gisela Veronica | VALDEZ, Heliana Hebe

HOSPITAL REGIONAL DR. ENRIQUE VERA BARROS

Introducción y Objetivos: El género *Acinetobacter* spp. es causa importante de morbilidad infecciosa y mortalidad, que afecta mayormente a pacientes inmuncomprometidos. Ésta bacteria es la que más frecuentemente se aísla en infecciones nosocomiales y la de mayor importancia clínica, en los últimos 20 años, se ha implicado en una variedad de infecciones, particularmente las asociadas a ventilación mecánica, dichas infecciones son difíciles de tratar por la amplia resistencia de esta bacteria a la mayoría de los antibióticos. Nuestro objetivo fue evaluar la prevalencia de infecciones por *Acinetobacter* spp. en pacientes del Hospital Dr. Enrique Vera Barros en el periodo 2017 – 2018 Provincia de La Rioja.

Materiales y Métodos: Se realizaró un estudio observacional analítico retrospectivo que abarcó el periodo 2017 - 2018, obteniéndose información a través del libro de registro de datos de cepas de *Acinetobacter* spp. del Laboratorio de Bacteriología Hospital Dr. Enrique Vera Barros. Las muestras se sembraron en diferentes medios de cultivo, la identificación de género y especie se realizó con tipificaciones manuales. A las cepas que presentaban multiresistencia a diversos antibióticos, se las estudio según el algoritmo del (LNR)-INEI-ANLIS.

Resultados: En el periodo 2017 – 2018 se aislaron 30 muestras positivas para *Acinetobacter* spp. (2017 n: 13; 2018 n: 17). La distribución por muestras fueron: 28% minibal, 14% sangre y tejido óseo, 10% urocultivo por sonda y en menor porcentaje esputo, punta de catéter, urocultivo por chorro medio, piel y partes blandas, retrocultivos.

Conclusiones: Analizando este estudio vemos que los pacientes internados en UTI presentaron mayores aislamientos de *Acinetobacter* spp. Con predominio en las muestras de minibal. En cuanto a la susceptibilidad bacteriana da como resultado una sensibilidad en el 100% de los casos que fueron utilizados las Polimixinas, seguido de Minociclina y Tigeciclina cuyos números de cepas sensibles son mayores a las resistentes y dejando ineficaces los demás antibióticos utilizados para medir sensibilidad y resistencia. El 93% de los registros positivos con Acinetobacter multirresistente utilizan carbapenemasas del tipo oxacilinasa como mecanismo de resistencia.

JU 062

0216 - OPTIMIZACIÓN DE CONDICIONES OPERATIVAS EN UN REACTOR DE LABORATORIO PARA LA PREPARACIÓN DE UN FERMENTO LÁCTICO CAPAZ DE MEJORAR PANES SIN GLUTEN

PAULÓN, Florencia Geraldina | BURNS, Patricia | QUIBERONI, Andrea | **CAPRA, María Luján**

INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL (INLAIN, UNL-CONICET)

Introducción y Objetivos: *Weissella cibaria* W20, bacteria láctica heterofermentante presente en masa madre de pan artesanal, mejoró textura y organolepsis de pan sin gluten (sin TACC). Realzó sabor y aroma, asemejándolo a pan de campo y produjo alveolos más pequeños y uniformes, similares a los de pan de molde. Estas son contribuciones de especial interés considerando la pobreza sensorial que caracteriza al pan sin TACC. Un paso crítico para usar microorganismos como fermentos es su producción a gran escala. Previamente, se seleccionó un medio de cultivo económico, sin TACC, apto para escala industrial. El objetivo de este estudio fue optimizar y simplificar condiciones operativas de un fermentador de laboratorio para maximizar producción de biomasa de W20, con altos niveles de células viables en un tiempo adecuado y a bajo costo.

Materiales y Métodos: Se realizaron fermentaciones en un reactor tanque agitado de laboratorio con control de temperatura y pH (Sartorius Biostat A plus de 2 L), en medio a base de permeado de suero de quesería (PSQ) inoculado (1 %) con W20. Se probaron dos fuentes de carbono, fermentaciones a pH libre o controlado a 5,6 (NaOH 8M), presencia/ausencia de burbujeo de CO_2, tiempos y velocidades de agitación. Se determinaron: viabilidad por recuentos microbiológicos, DO_{560} en espectrofotómetro (Metrolab M1700, Mercosur), evolución de pH y potencial de O_2. Se hicieron observaciones microscópicas de contraste de fases (Jenamed 2, Carl Zeiss-Jena) en puntos críticos de la fermentación. La biomasa producida se centrifugó (8000 rpm, 10 min, 10 °C) y se determinó la masa del pellet.

Resultados: Cuando se agregó sacarosa comercial al medio, previa esterilización, el desarrollo de W20 ($2{,}5.10^9$ UFC/ml, 8 h) fue similar al obtenido para glucosa agregada como solución estéril post-esterilización, eligiéndose al medio con sacarosa (PSQS) por bajar costos y facilitar aspectos operativos. La cosecha de biomasa en PSQS (13,9 g) fue mayor que en PSQ glucosa (8 g), por producción celular de exopolisacáridos (EPS) en presencia de sacarosa. A pH controlado (5,6) se logró el máximo ($4{,}5.10^9$ UFC/ml) a las 8 h y la biomasa producida (46,3 g) aumentó considerablemente señalando la conveniencia de regular pH para mejor rendimiento de la fermentación. A partir de la 5ta hora, las células se observaron en aglomerados, cuyo tamaño aumentó con el tiempo, probablemente por mayor producción de EPS. El incremento de agitación (150 a 250 rpm) a la 5ta hora, produjo máximo recuento ($5{,}5.10^9$ UFC/ml, 7 h), con mayor producción de células (21,5 g)

por sobre la producción de EPS (17,4 g). El aumento de la velocidad de agitación (de 250 a 400 rpm) y el burbujeo de CO_2 (0 a 5 h), no mejoraron la producción de biomasa, pero complejizaron y encarecieron la operación.

Conclusiones: La fermentación con W20 en PSQS a pH controlado y con aumento de agitación (de 150 a 250 rpm en la 5ta hora) produjo biomasa en cantidad y tiempo apropiados, resultados que son promisorios para la preparación de un fermento a nivel industrial.

JU 063

0899 - VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE CARBAPENEMASAS MEDIANTE SISTEMA AUTOMATIZADO MOLECULAR BD MAX™

MAINETTI, Paula Gabriela [1] | SERRUTO, Gisela Ines[1] | WISNER, Barbara[1] | WELTMAN, Gabriela[2] | ZARACHO, Juan[1] | ZARATE, Mariela Soledad[1]

SANATORIO GUEMES [1]; BD DIAGNOSTIC SYSTEM [2]

Introducción y Objetivos: La diseminación de bacilos Gram negativos resistentes a carbapenemes (BGNRC) se ha convertido en un importante problema de salud pública, y los mecanismos enzimáticos son uno de los más frecuentes. Las carbapenemasas principalmente documentadas son tipo KPC, OXA, NDM y VIM e IMP. La vigilancia epidemiológica de pacientes colonizados ayuda a implementar medidas de prevención y control de infecciones, permitiendo limitar su propagación en entornos de atención médica. La detección por métodos moleculares de portadores intestinales de BGNRC es un paso clave en el control de infecciones. OBJETIVOS: 1- Evaluar la prevalencia de carbapenemasas en hisopados rectales más frecuentes en nuestro centro mediante el instrumento BD MAX™. 2- Evaluar la prevalencia de carbapenemasas detectadas durante el año 2018 y 2019. 3- Evaluar el tiempo de informe de resultados con el instrumento BD MAX™.

Materiales y Métodos: Las muestras remitidas fueron hisopados rectales obtenidos de pacientes que cumplían los siguientes criterios: • Derivados de otra Institución de Salud : Hospitales, Clínicas y Sanatorios, Centros de Rehabilitación con Internación. • Antecedentes de internación en los 30 días previos. • Colonización o infección desde los 30 y hasta 90 días previos por BGNRC. Las muestras fueron procesadas por metodología molecular BD MAX™ según recomendaciones del fabricante.

Resultados: De un total de 2461 muestras, 768 (31%) fueron positivas por metodología molecular BD MAX™. La frecuencia de carbapenemasas en nuestro centro fue: 330 blaKPC (13,4%), 194 blaOXA-48 (7,9%), 160 blaVIM (6,5%) y 84 blaNDM (3,4%) durante el periodo 2018-2019. La prevalencia de carbapenemasas durante el año 2018 fue: 284 blaKPC (13,9%); 150 blaOXA (7,3%); 128 blaVIM (6,3%) y 50 blaNDM (6,4%). Durante el 2019, la prevalencia fue: 46 blaKPC (11,1%); 44 blaOXA (10,6%); 32 blaVIM (7,7%) y 34 blaNDM (8,2%). El tiempo de respuesta se redujo de 48hs con la metodología manual a solo 3hs utilizando metodología molecular.

Conclusiones: La utilización de metodología molecular BD MAX™ para la detección de BGNRC directamente a partir de hisopo rectal representa una herramienta ventajosa para una identificación rápida de portadores y al mismo tiempo, permite una identificación precisa del tipo de carbapenemasa. Se observa que la carbapenemasa tipo KPC es la primera en prevalencia, concordando con datos documentados, y se puede observar un incremento en la prevalencia de tipo NDM en el año 2019. La obtención de resultados en pocas horas permite mejorar el manejo clínico de pacientes, reducir la diseminación de multiresistencia, el tiempo de hospitalización y los costos de atención médica.

JU 064

0756 - DETECCION DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EN MUCOSA ORAL Y GENITAL DE PACIENTES DE LA CIUDAD DE CORDOBA

KIGUEN, Ana Ximena [1] | MOSMANN, Jessica Paola[1] | SANGUINO, Silvia[2] | PIZARRO, Pedro[2] | DANIEL, David[2] | MARSON, Cristina[2] | TALAVERA, Angel[3] | LOPEZ DE BLANC, Silvia[4] | VENEZUELA, Raul Fernando[5] | CUFFINI, Cecilia[1]

INSTITUTO DE VIROLOGÍA DR JM VANELLA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [1]; HOSPITAL RAWSON [2]; CÁTEDRA A DE ESTOMATOLOGÍA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [3]; CÁTEDRA B DE ESTOMATOLOGÍA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [4]; INSTITUTO DE VIROLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. [5]

Introducción y Objetivos: *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) es la Infección de Transmisión Sexual bacteriana mas prevalente en el mundo. La OMS estima una incidencia anual de 131 millones de casos. Teniendo en cuenta los diferentes hábitos sexuales de las personas y la semejanza morfológica que existe entre

el epitelio oral y cervical, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de *C. trachomatis* en mucosa oral y genital de pacientes de la ciudad de Córdoba, Argentina.

Materiales y Métodos: Para esto se obtuvieron 133 muestras orales y genitales pertenecientes a 53 pacientes (31 pacientes femeninas y 22 masculinos) en el período de un año (mayo 2018/mayo 2019). A las muestras se les realizó una extracción de ADN utilizando kit de extracción comercial AccuprepGenomic DNA Extraction Kit (BIONEER, Alameda, CA, USA). Posteriormente se analizaron las muestras mediante PCR con los cebadores CTP1/CTP2 para la detección del gen OmpA de *C. trachomatis*.

Resultados: Se estudiaron 53 pacientes de 19 a 78 años, con una media de 41 años de edad. A todos se les tomaron muestras orales y genitales, teniendo en cuenta que cada paciente tenía algún tipo de lesión en alguna de las mucosas estudiadas. En 16 (30%) pacientes se encontró la presencia de *C. trachomatis*; 12 (75%) mujeres y 4 (25%) hombres. De las 133 muestras estudiadas 26 (19,5%) resultaron positivas; el 73% (19/26)en mucosa genital y el 27% restante (7/26) en mucosa oral.Es importante destacar que en 5 pacientes se determinó la presencia de *C. trachomatis* en ambas mucosas.

Conclusiones: Se detectó una alta prevalencia de infección por *C. trachomatis* con una mayor tendencia en mujeres. Así mismo el alto porcentaje (50%) de presencia de *C. trachomatis* en ambas mucosas demuestran la importancia de estudiar a esta bacteria en sitios extragenitales en pacientes con lesiones y para esto es esencial el trabajo interdisciplinario del equipo de salud, que permita lograr el estudio holístico del paciente y llegar, de esta manera a un buen diagnóstico y posterior tratamiento del mismo.

CAM - Enseñanza en microbiología

JU 065

0046 - EL APRENDIZAJE BASADO EN PROYECTOS (ABPT) COMO ESTRATEGIA DE ENSEÑANZA EN MICROBIOLOGÍA

PIAGGIO, Mercedes Carolina | AVILÉS, María Victoria | LOUND, Liliana Haideé

FACULTAD DE BROMATOLOGÍA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ENTRE RÍOS

Introducción y Objetivos: El ABPt es una metodología pedagógica de gran interés en la enseñanza en el nivel superior. Conlleva la resolución de situaciones problemáticas que aparecen durante el transcurso del proyecto, el cual se define como una tarea compleja. Desarrolla competencias genéricas o transversales, fundamentales en la actuación profesional. El objetivo fue promover el aprendizaje de los conceptos propios de Microbiología de los Alimentos y de habilidades comunicacionales y procedimentales a través de puesta en marcha del ABPt.

Materiales y Métodos: Durante los ciclos lectivos 2013-2019 se llevaron a cabo 9 trabajos intercátedras basados en la metodología ABPt y enmarcados dentro de "Proyectos de Innovación e Incentivo a la Docencia" de la Universidad Nacional de Entre Ríos. Los proyectos fueron: "Experimentado la ciencia: integración de contenidos en el abordaje de las Salmonelosis y las Campilobacteriosis"(2019); "El arte en el aula: la maqueta como recurso didáctico en microbiología" (2019); "Los hongos en los alimentos" (2018); "Las frutas y verduras protectoras de la Salud", aspectos sanitarios" (2018); "El mundo que no vemos: ¿Qué hay detrás de las esponjas que usamos en la limpieza de la cocina?" (2017); "La ciencia en el aula"; "La prevención de las enfermedades transmitidas por alimentos" (2016); "Calidad microbiológica del aire y condiciones higiénicas en el procesado de los alimentos" (2015); "Aprender enseñando" (2014); "El trabajo de campo como estrategia integral educativa" (2013). Cada proyecto duró 4 meses. Se plantearon criterios de evaluación de los conocimientos, de actitudes y de procedimientos.

Resultados: Los proyectos involucraron la participación de los estudiantes de las cátedras de Microbiología de la Licenciatura en Bromatología, junto a otras disciplinas. Las cátedras participantes variaron en función de la temática abordada, y se diseñaron actividades de interacción de los grupos para estimular el trabajo colaborativo e interdisciplinario. En cada ciclo lectivo se presentó la propuesta de trabajo y los estudiantes participaron en cada una de las etapas: planteamiento del problema de estudio, elección de las muestras y diseño del trabajo de campo. Una vez concluido el estudio se generaron ámbitos de discusión y de análisis de los resultados y se realizaron los informes. El principal rol de los docentes fue de facilitadores, ayudando en la realización de las actividades prácticas y trabajos de campo, los acuerdos con otras instituciones, en el cumplimiento de los compromisos, de fechas de entrega de informes, y asegurando las comunicaciones de los resultados acordes con los requerimientos según el contexto. Los proyectos se evaluaron cualitativa y cuantitativamente, fijándose como criterios de evaluación: compromiso e involucramiento de los estudiantes, responsabilidad, aprendizajes conceptuales, destrezas procedimentales, habilidades comunicacionales. La totalidad de los estudiantes mostraron motivación hacia las actividades y destinaron más tiempo que el establecido en la planificación de la Cátedra. Los estudiantes presentaron oralmente los resultados en tres Congresos (2° y 3° Congreso Nacional de Alimentación Segura y Saludable (2013 y 2014), II Congreso de Bromatología y Nutrición (2017)); en "La semana de la ciencia" (años 2017 y 2018); y en una Jornada (Jornadas de Difusión de Proyectos de Investigación, Extensión y Actividades Académicas (2013). También

publicaron 26 artículos de divulgación científica en una columna semanal de un periódico local de Gualeguaychú (Diario "El Argentino", 2015).

Conclusiones: El ABPt es una metodología pedagógica con grandes ventajas en la enseñanza universitaria. Los estudiantes presentan una gran motivación hacia el aprendizaje cuando participan activamente en el diseño del proyecto y en la comunicación de los resultados.

JU 066

0159 - HEMOPARASITOSIS EN CANINOS, UNA EXPERIENCIA DE TRABAJO EN EQUIPO, ARTICULANDO DOCENCIA, EXTENSIÓN E INVESTIGACIÓN EN LA ZONA DE INFLUENCIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

RUIZ, Marcelo Fabián[1] | AGUIRRE, Fabián[1] | VON DER THUSEN, Santiago[1] | CADOCHE, Lilian[2] | ZIMMERMANN, Roxana[1] | PONTARELLI, Fiorela[1] | BAROLIN, Johann[1] | **MARIÑO, Betina** [3]

CÁTEDRA ANÁLISIS CLÍNICOS, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [1]; CÁTEDRA MATEMÁTICA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]; CÁTEDRA MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [3]

Introducción y Objetivos: Uno de los objetivos de la carrera de Medicina Veterinaria es la formación de profesionales que puedan contribuir a la solución de problemáticas sociales, que sean promotores del desarrollo y el bienestar humano en los diversos ámbitos de trabajo, con criterio, capacidad de trabajo en equipo y habilidades para planificar, evaluar, controlar y resolver asertivamente. Bajo esta premisa, se realizó una propuesta de Extensión de Educación Experiencial, con alumnos de la carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral (FCV-UNL), abordando la problemática de los hemoparásitos en caninos, desde el diagnóstico y la prevención. El objetivo de este resumen, es describir una experiencia de trabajo en equipo articulando docencia, extensión e investigación a partir de un problema sanitario y social, en la zona de influencia de la ciudad de Esperanza, provincia de Santa Fe, Argentina.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron 244 muestras de sangre con anticoagulante, pertenecientes a pacientes caninos atendidos en el Hospital de Salud Animal y se procesaron en el laboratorio de Análisis Clínicos de FCV-UNL. Los extendidos sanguíneos se colorearon previo a su observación con la tinción de May Grünwald Giemsa. Participaron 10 estudiantes avanzados, a quienes les toco realizar búsquedas bibliográficas, prácticas de diagnóstico en el laboratorio, confección de informes y comunicación de los hallazgos a los propietarios de los animales. Asimismo realizaron actividades de divulgación y concientización en vecinales, haciendo hincapié en la tenencia responsable de mascotas, cuidado y prevención de esta enfermedades potencialmente zoonóticas.

Resultados: El 14,75 % de las muestras resultaron positivas a algún tipo de hemoparásito. Los hemoparásitos más frecuentes fueron Anaplasma platys (18/244 muestras) y [Hepatozoon canis] (13/244), mientras que [Ehrlichia canis] (2/244), [Dirofilaria immitis] (2/244) y [Piroplasmas] (1/244) se encontraron con menor frecuencia.

Conclusiones: Estas actividades permitieron a los alumnos percibirse a sí mismos como agentes de salud, ya que aprendieron, aplicaron y comprendieron mejor conocimientos disciplinares específicos. Tomaron decisiones, desarrollaron espíritu crítico, fundamentando "¿Qué? ¿Cómo?, ¿Dónde?, ¿Por qué?, ¿Cuándo?". Como conclusión se destaca la importancia de las prácticas de extensión como herramienta de formación universitaria y se resalta la motivación de los estudiantes hacia el compromiso social en acciones de educación para la salud con el objetivo de contribuir a la prevención de las hemoparasitosis caninas. En esta actividad los estudiantes profundizaron sus aprendizajes a través de experiencias propias y grupales asociadas al trabajo comunitario, cumpliendo a la vez objetivos de servicio a la sociedad, contribuyendo con el conocimiento de las hemoparasitosis en caninos.

JU 067

0340 - EL MALBRÁN EN LOS MEDIOS: ¿CÓMO SE VISIBILIZAN LAS ACTIVIDADES DEL INSTITUTO EN LA PRENSA GRÁFICA NO ESPECIALIZADA?

APROINM,

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: La Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos G. Malbrán" es un organismo que ejecuta las políticas sanitarias de la Secretaría de Gobierno de Salud en lo que respecta a la prevención, diagnóstico referencial, investigación y tratamiento de enfermedades toxo-infecciosas, de base genética, de base nutricional y no transmisibles. Asimismo, tiene responsabilidad en la

producción y control de calidad de inmunobiológicos, en la ejecución de programas sanitarios vinculados a su área de incumbencia, en la coordinación de redes de laboratorio del país, en la realización de estudios epidemiológicos y en la docencia y capacitación de recursos humanos en sus relaciones laborales. A pesar de las múltiples incumbencias y la directa articulación con la Salud Pública, en numerosas ocasiones no se visibiliza en la comunidad general el rol central de este organismo en los eventos de salud. El objetivo del presente estudio es describir cuáles son las áreas de interés en las que la prensa gráfica no especializada difundió la participación del Instituto Malbrán en los últimos años.

Materiales y Métodos: Se realizó una búsqueda online con los términos "ANLIS" y "Malbrán" en los sitios web de los diarios de mayor tirada del área Metropolitana de Buenos Aires (Clarín, Infobae, La Nación y Página 12) y se registraron y categorizaron los temas abordados por la prensa gráfica no especializada durante el período 2015-2019.

Resultados: En los últimos años el rol del Instituto Malbrán se ha difundido en este tipo de medios esencialmente por consultas de opinión a expertos técnicos y por la asistencia diagnóstica y estudio referencial de los eventos de salud. Las temáticas de interés público abordadas fueron: i) brotes de enfermedades infecciosas (Hantavirus, Síndrome Urémico-Hemolítico, Ébola, Botulismo); ii) enfermedades inmunoprevenibles (VPH, Sarampión, Meningitis meningocóccica, Hepatitis A y B); iii) emergencia de eventos de interés nacional/mundial (*Streptococcus pyogenes*, *Candida auris*, resistencia antimicrobiana), y iv) Envenenamiento por vectores (alacranes, arácnidos y ofidios).

Conclusiones: Se considera valioso extender la difusión a la comunidad en general de las múltiples misiones de esta institución en el ámbito de la Salud Pública, en materia sanitaria y científico-tecnológica, ya que en muchas ocasiones no se visibilizan. Reivindicar el rol de este tipo de organismos nos permite construir oportunidades para alcanzar nuestro principal objetivo: cuidar la salud de la población.

JU 068

0353 - PROPUESTA DE ESTRATEGIAS DOCENTES PARA LA ENSEÑANZA DE LA MICROBIOLOGÍA EN LA CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

NEDIANI, Miriam Teresa | TABOADA, Natalia Verónica

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO

Introducción y Objetivos: En este momento la universidad enfrenta el gran desafío de implementar prácticas educativas que promuevan el desarrollo de capacidades y habilidades que permitan anticipar respuestas, destinado a lograr una mayor articulación con los problemas de la sociedad y el mundo del trabajo. Siendo primordial promover la incorporación del individuo a una educación general y especializada, que facilite la adquisición de las competencias básicas para enfrentar situaciones diversas en su futuro campo profesional. Debido a que en la actualidad la sociedad demanda ingenieros competentes, es importante que los docentes utilicen nuevas metodologías en el aula, que sean una combinación armónica de diferentes estrategias y que además sean coherentes con la asignatura que imparten y con los intereses de los estudiantes. El objetivo de este trabajo fue el de diseñar estrategias para la enseñanza de la práctica de la asignatura Microbiología General, relacionados con los subtemas Técnicas para medir la carga microbiana y Microorganismos viables y totales incluidos en el tema Siembra y aislamiento de microorganismos.

Materiales y Métodos: Las estrategias son para los alumnos de 3 año que cursan Microbiología General de la carrera de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad de Santiago del Estero, Argentina. Se selecciona como metodologías de trabajo una combinación de los métodos basados en problemas y el aprendizaje basado en competencias. Tiempo de ejecución 3 clases continuadas. Para ello, se parte desde un problema real; Latas hinchadas de conservas de arvejas, luego del control de esterilidad en estufas a 50°C, en primera instancia, se trabaja de forma individual para la búsqueda de información. Continuando con lectura y análisis de material bibliográfico técnico y científico utilizando bibliotecas virtuales (papers, libros digitales, actas de resúmenes de congresos y jornadas). Segundo, se trabaja en pequeños grupos para debatir las posibles razones del problema y sobre las técnicas necesarias para realizar la experiencia. Tercero, experimentación con técnicas seleccionadas. Cuarto, exposición y defensa grupal de los resultados, confección de informe técnico indicando: normativas, muestreos y criterios microbiológicos empleados, justificación, propuestas de cambio, mejoras o innovación y por último una visita a la planta industrial para interactuar con los responsables de los sectores de producción, investigación y control de calidad.

Resultados: Los resultados muestran que la aplicación de estrategias combinadas facilita que los alumnos adquieran habilidad para desempeñarse de manera efectiva en equipos de trabajo, tener un pensamiento crítico y reflexivo para la resolución de problemas y aprender en forma continua y autónoma.

Conclusiones: A través de las actividades propuestas, los estudiantes adquirieren responsabilidad profesional, compromiso social y seguridad en las destrezas para el trabajo en el laboratorio.

JU 069

0360 - TRABAJOS PRÁCTICOS DE INNOVACIÓN: ESTRATEGIA PARA EL APRENDIZAJE DE LOS ESTUDIANTES

GERARD, Liliana Mabel | CORRADO, María Belén | ZAMPEDRI, Patricia Andrea

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA DE AGUAS Y ALIMENTOS, FAC. CS. DE LA ALIMENTACIÓN, UNER

Introducción y Objetivos: Los docentes universitarios están obligados a aplicar estrategias de enseñanza que incentiven a los estudiantes, promoviendo el conocimiento de una manera fácil y motivadora. El desafío frente al aula es presentar propuestas donde los alumnos puedan relacionar la teoría, la práctica y el método de autoaprendizaje. El objetivo del presente trabajo fue elaborar trabajos prácticos innovadores para estimular el interés de los estudiantes en el aprendizaje de la Microbiología, abordando el estudio de un microorganismo como eje temático.

Materiales y Métodos: La Universidad de Entre Ríos convoca anualmente a docentes para que presenten proyectos de actividades de innovación en clases. La cátedra Microbiología General de la Facultad de Ciencias de la Alimentación ha presentado propuestas que integran la Microbiología Tradicional y la Biología Molecular. Se han presentado proyectos de técnicas de extracción de ADN y detección de genes conservados de microorganismos. Las actividades permitieron el estudio de un microorganismo particular, el cual se toma como eje temático para desarrollar trabajos prácticos durante el cuatrimestre de dictado. En 2018 se estudió *Campylobacter* jejuni (se eligió por su relevancia: cambios en la legislación de la Unión Europea, que obliga a exportadores de pollos a cumplir estándares dispuestos en la misma). Se propusieron distintos trabajos prácticos: redacción de informes microbiológicos observando características macroscópicas y microscópicas, posteriormente, se estudió la metodología de cultivo utilizando distintos medios y condiciones, se planteó la extracción de ADN y por último, se realizó la detección de genes altamente conservados para su identificación mediante PCR. Asimismo, los estudiantes tuvieron una participación activa, ya que investigaron distintos aspectos del microorganismo, haciendo propuestas de metodologías a realizar en el laboratorio, como también se informaron de las últimas investigaciones sobre el tema.

Resultados: Los informes presentados por los alumnos permitieron constatar que las actividades propuestas fueron innovadoras y aceptadas satisfactoriamente por ellos. Este método de enseñanza y aprendizaje, obligó a los docentes participantes a realizar modificaciones de objetivos, contenidos, métodos, modos de evaluación y recursos tecnológicos empleados en el dictado de clases. El estudiante por su parte, a través de la búsqueda de información, fue impulsado a construir su propio saber, relacionando contenidos, teniendo una conducta de autoestudio, siendo protagonista de su propio aprendizaje. Para los docentes fue un desafío llegar a desarrollar estrategias didácticas innovadoras, centrando las estrategias en el aprendizaje del sujeto para que adquiera además de conocimientos, capacidades y habilidades para que se pueda desempeñar como un profesional independiente.

Conclusiones: La enseñanza de la Microbiología empaquetada no garantiza el aprendizaje del estudiante, se hacen necesarias llevar al aula-laboratorio estrategias didácticas, en la que el estudiante sea protagonista, descentralizando la tarea del docente como único portador del conocimiento.

JU 070

0701 - EL JUEGO EN LA ENSEÑANZA UNIVERSITARIA: UNA HERRAMIENTA DIVERTIDA Y MULTIPROPÓSITO

PETRERA, Erina

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UBA

Introducción y Objetivos: La práctica docente universitaria está atravesada por múltiples desafíos: contenidos numerosos, variados y complejos, alumnos diversos, marcos institucionales en cambio o en estado de parálisis, teorías pedagógicas con orientaciones difíciles de llevar a la práctica y bajo presupuesto. Es por eso que la selección de enfoques y estrategias docentes se sustenta en el conocimiento de sus fundamentos filosóficos y científicos y de los principios de su aplicación en la práctica. En las carreras de Ciencias Biológicas y Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, las materias tienen efectivamente una temática compleja con alta carga horaria. El tiempo en el aula/laboratorio no siempre es suficiente para discutir los temas con la profundidad necesaria. En la materia Virología Molecular, tratamos de hacer ameno el aprendizaje realizando talleres y evitando la clase magistral. Es por ello que para que los estudiantes puedan integrar los conocimientos adquiridos durante el trabajo práctico de laboratorio correspondiente a la inhibición de la multiplicación viral, se diseñó un juego de mesa.

Materiales y Métodos: El juego es muy simple, pero contempla muchas modificaciones de las técnicas utilizadas que no se pueden explicar en clase por falta de tiempo. Está formado por un tablero que representa el ciclo de multiplicación viral y por dos mazos de tarjetas. El jugador toma una tarjeta de cada mazo, una le indica en que etapa del ciclo se debe posicionar sobre el tablero y la otra contiene una pregunta. El jugador debe contestar la pregunta refiriéndose a la etapa del ciclo que le tocó y todos los demás participantes pueden opinar sobre la respuesta dada.

Resultados: Los estudiantes se sorprenden gratamente con el juego y a pesar de mostrarse tímidos o avergonzados al comienzo, logran relajarse y competir para contestar las preguntas, llegando a una lluvia de ideas que les permite integrar distintos conceptos. Además, las dudas o conceptos erróneos salen a la luz en la discusión logrando un ida y vuelta que lleva a una retroalimentación positiva. Esta actividad culmina con una encuesta anónima, donde los estudiantes expresan como se sintieron jugando. Los resultados de las encuestas realizadas en el 2018 (n=18) muestran que al 94,4% de los estudiantes el juego le pareció divertido, aunque un 5,6% lo encontró aburrido. El 77,8% se sintió interesado durante el juego, el 5,6% se sorprendió, el 5,6% se sintió avergonzado, otro 5,6% se aburrió y un 5,6% se sintió ridículo. Vale destacar que el 100% cree que el juego le sirvió. Un 88,9% cree que el juego le permitió integrar conocimientos, al 27,8% lo hizo pensar de otra manera y el 100% lo entendió. Respuestas similares se obtuvieron en los años 2016 y 2017.

Conclusiones: Los resultados obtenidos, así como también la buena predisposición de los estudiantes hace que reflexionemos sobre la importancia de innovar en el aula, aunque esta innovación sea un simple juego de mesa.

JU 071
0864 - LA INTEGRACIÓN DE CONTENIDOS TEÓRICO-PRÁCTICOS EN LA ENSEÑANZA DE LA VIROLOGÍA Y SU INFLUENCIA EN EL DESEMPEÑO ACADÉMICO DE LOS ALUMNOS

SCOLARO, Luis Alberto | CASTILLA, Viviana

LAB. VIROLOGÍA, DEPTO. QUÍMICA BIOLÓGICA, FAC. CS. EXACTAS Y NATURALES, UBA, IQUIBICEN (CONICET)

Introducción y Objetivos: El aprendizaje de los contenidos de una asignatura está influenciado por el tipo de actividades desarrolladas en el transcurso de la misma. Algunas de estas actividades están más orientadas a la recepción y reproducción de información (clases expositivas, división entre temas teóricos y prácticos, resolución de ejercicios de forma individual), mientras que otras apuntan a la construcción del conocimiento (clases interactivas, integración de temas teóricos y prácticos, resolución grupal de situaciones problemáticas). A su vez, el tipo de actividades realizadas condiciona el nivel de profundidad que se exigirá en la futura situación de evaluación. Las evaluaciones de tipo cerradas ponen en juego el manejo más superficial o memorístico de los contenidos, mientras que las evaluaciones abiertas, en las que frente a un problema puede existir más de una respuesta, obligan al empleo por parte de los alumnos de estrategias cognitivas de mayor complejidad. Por este motivo, la evaluación de los aprendizajes constituye un elemento clave en el aprendizaje, ya que condicionará la profundidad y el nivel del mismo. Como docentes de la materia Virología Molecular de la FCEN, UBA, hace tres años nos propusimos modificar algunas prácticas habituales de nuestra docencia planteándonos como objetivos: 1) modificar la estructura rígida que dividía la materia en clases expositivas teóricas y trabajos prácticos, incluyendo actividades que favorecieran una mayor participación de los alumnos, y 2) realizar evaluaciones teórico-prácticas abiertas.

Materiales y Métodos: Se compararon dos modalidades de cursada: A) Separación de contenidos en teóricos y prácticos con evaluaciones cerradas vs; B) Clases téorico-prácticas con evaluaciones a libro abierto. Virología Molecular es una materia cuatrimestral, de 8 horas semanales, cuya promoción requiere de un promedio de 7 puntos. El desempeño académico de los alumnos se evaluó a través de los siguientes parámetros: promedio de notas obtenidas en parciales, porcentaje de alumnos que promocionan y porcentaje de alumnos que desaprobaron uno o más parciales.

Resultados: El promedio de calificaciones en los parciales obtenido en la modalidad A fue de 7,45 mientras que, en el caso de la modalidad B el promedio fue de 7,42. Sin embargo, en la modalidad B se observó una disminución del porcentaje de alumnos que desaprobaron 1 o más parciales (15,1%) respecto a la modalidad A (21,0%). Asimismo, el porcentaje de alumnos que promocionaron la materia fue algo superior en la modalidad B (76,38%) en comparación con la modalidad A (62,13%).

Conclusiones: La implementación de un curriculum en el cual se apuntó a una mayor integración de los contenidos teóricos y prácticos, permitió que, frente a una evaluación que requería el empleo de herramientas cognitivas de mayor complejidad, se evidenciara una mejora en el desempeño académico de los alumnos.

JU 072
0990 - ATACANDO AL ENEMIGO: GUERRA A LOS MICROBIOS

REINOSO, Elina | MOLIVA, Melina

DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC)

Introducción y Objetivos: El extraordinario avance científico logrado en el campo de la detección, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades nos ha hecho pensar en algún momento que las enfermedades transmisibles pasarían a ser parte de la historia del siglo XX. Pero la realidad nos muestra que los problemas que ellas suscitan todavía están lejos de ser resueltos. Muchas personas actualmente están infectadas con distintos microorganismos que se transmiten de persona a persona. Resulta de importancia conocer sobre microorganismos que producen enfermedades transmisibles y generar conciencia sobre la importancia de la vacunación en la comunidad.

Materiales y Métodos: A través de la presente actividad se realizó una muestra (formato maqueta) con el objetivo difundir conocimientos básicos de microbiología y enfermedades transmisibles a fin de concientizar sobre la importancia de las actividades de prevención y valorar el rol de las vacunas en la salud humana.

Resultados: Se presentó la maqueta en colegios secundarios y se abordó la temática de las enfermedades transmisibles desde los puntos de vista microbiológico (agente), epidemiológico (distribución de la enfermedad, reservorio del agente, modo de transmisión, período de incubación, identificación de factores de riesgo y vigilancia) y la importancia de la vacunación a fin de generar conciencia sobre la importancia de la misma en la comunidad como prevención primaria.

Conclusiones: Los alumnos se mostraron muy interesados en el tema, pudieron adquirir un mayor conocimiento científico en relación a la microbiología y comprendieron medidas de higiene y salud para prevenir enfermedades, entendiendo que la vacunación es una obligación social.

CAM – Micobacterias

JU 073
0689 - PHOP Y SU RESPUESTA AL ESTRÉS ÁCIDO EN *MYCOBACTERIUM BOVIS*

GARCIA, Elizabeth Andrea | BLANCO, Federico Carlos | **KLEPP, Laura** | BIGI, Fabiana

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA

Introducción y Objetivos: Mycobacterium bovis es el agente causal de la tuberculosis bovina, una enfermedad zoonótica que genera problemas en la salud pública y grandes pérdidas económicas para nuestro país. PhoP es una proteína reguladora de respuesta que pertenece al sistema de dos componentes PhoPR y se la vincula con la respuesta al estrés ácido en *Mycobacterium tuberculosis* y *M. bovis*. La respuesta a dicho estrés requiere balancear el estado redox de la bacteria dado que el control de estas vías es crucial para regular el metabolismo y redistribución de la energía celular y así sobrevivir en la célula hospedadora, el macrófago. El objetivo de este trabajo es dilucidar el rol de PhoP en la regulación de la homeostasis redox y sus adaptaciones metabólicas para la sobrevida de *M. bovis* ante estrés ácido.

Materiales y Métodos: Se realizaron extracciones de ARN total de la cepa salvaje M. bovis 04-303 y la cepa mutante en phoP crecidas a pH neutro y a pH ácido durante 3hs y 24hs. Luego se realizó la transcripción reversa del ARN obteniendo el ADN copia para ser empleado en la cuantificación por PCR-cuantitativa (PCRc). Para ello, se utilizaron oligonucleótidos correspondientes a genes que en M. tuberculosis son regulados por PhoPR en respuesta a estrés ácido, al gen que codifica el regulador del estrés redox WhiB3, a genes relacionados con la síntesis de PDIM y TAG, entre otros. Las PCRc se realizaron con tres muestras biológicas por duplicado y los datos obtenidos se analizaron mediante los software LingReg y Fg. El gen sigA se utilizó como gen de control para evaluar las diferencias en la expresión génica entre grupos. Además, se emplearon extractos lipídicos de la cepa salvaje, la cepa mutante y la cepa complementante con el operón phoPR crecidas con acetato marcado con $C^{1}4$ a pH ácido durante 24hs en cromatografía en capa delgada. Luego se utilizó el sistema de solvente éter de petróleo: acetona (98:2) para resolver PDIM y hexano:dietiléter:ácido acético (80:20:1) para resolver TAG. Los lípidos sintetizados de novo marcados se detectaron y cuantificaron con Tyhoon.

Resultados: Los resultados muestran que la proteína PhoP regula genes relacionados con la síntesis de TAG pero no regula a la proteína WhiB3 ante estrés ácido, mostrando así que la regulación de WhiB3 es independiente de PhoP a diferencia de lo que ocurre en M. tuberculosis. Además, se observaron perfiles diferenciales en los lípidos PDIM y TAG entre la cepa mutante en PhoP y la cepa salvaje como la cepa complementante ante estrés ácido, mostrando que *M. bovis* requiere de PhoP para el remodelado de lípidos ante el estrés ácido.

Conclusiones: En conclusión, se logró determinar que la cepa *M. bovis* 04-303 responde al estrés ácido a través de PhoP mediante la inducción/represión de genes vinculados con la respuesta al estrés ácido mostrando una regulación diferencial entre las cepas *M. bovis* y *M. tuberculosis*. Además, se demostró que la ausencia de PhoP afecta a la composición lipídica frente a un desbalance redox.

JU 074

0615 - ACYL-COA CARBOXILASAS COMO BLANCOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS COMPUESTOS ANTIMICOBACTERIANOS

FIORITO, María Micaela | COLACCINI, Facundo | LARA, Julia | CROTTA ASIS, Agostina | GAGO, Gabriela | GRAMAJO, Hugo

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos: La tuberculosis es una enfermedad que continúa siendo una de las principales causas de muerte por enfermedades infecciosas en el mundo, principalmente debido a cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multiresistentes a los antimicobacterianos de uso clínico. Por consiguiente, es necesario identificar y desarrollar nuevos compuestos antimicobacterianos. *M. tuberculosis* presenta una envoltura celular rica en lípidos complejos, que resulta esencial para la virulencia, viabilidad y supervivencia de las mismas en ambientes hostiles. Los complejos acil-CoA carboxilasa (ACCasa) son los encargados de proveer los precursores utilizados tanto en la biosíntesis de los ácidos grasos de membrana citoplasmática, como en la de lípidos de la membrana externa. Estos incluyen a los ácidos micólicos(AM), tiocerol dimicocerosato (PDIM), diaciltrealosas (DAT) y fenolglicolipidos (PGL), que poseen en su estructura ácidos grasos multimetilramificados. Los complejos ACCasa, si bien tienen una especificidad de sustrato relajada, pueden clasificarse en acetil-CoA carboxilas (ACC), las cuales producen fundamentalmente malonil-CoA, y propionil-CoA carboxilasa (PCC), las cuales sintetizan fundamentalmente metilmalonil-CoA. El objetivo de este trabajo es evaluar la posibilidad de que dichas carboxilasas sean buenos blancos para descubrir nuevos antimicobacterianos,

Resultados: Se utilizaron ensayos enzimáticos para identificar inhibidores de la PCC, a través de la implementación de un cribado de alto rendimiento para probar millones de compuestos pertenecientes a Glaxo SmithKline (GSK). Se encontraron varias moléculas que inhibían más del 85% la actividad de esta enzima a una concentración de 10 uM. Cinco de estos compuestos inhibieron el complejo enzimático PCC con concentraciones inhibitorias medias (IC50) entre 1 y 20 uM. Al adicionar estas moléculas en cultivos de M. smegmatis y de *M. tuberculosis* H37Ra, todas presentaron actividad antimicobacteriana. Para continuar con la caracterización de los compuestos, se evaluó tanto el crecimiento como la biosíntesis de ácidos grasos y ácidos micólicos de M. tuberculosisH37Ra, mediante experimentos de marcación con $14^{C\text{-acetato}}$, utilizando 3 y 4 veces las concentraciones inhibitorias mínimas correspondientes. Dos de estos compuestos, DC12 y DJ9, generaron una importante inhibición del crecimiento bacteriano, con una concomitante disminución en la biosíntesis tanto de ácidos grasos como de ácidos micólicos, con respecto a la muestra no tratada.

Conclusiones: En conclusión, a partir de millones de compuestos pertenecientes a GSK, se logró identificar 5 moléculas con actividad antimicobacteriana, clasificando a dos de estas como las más potentes de toda la biblioteca ensayada. Como perspectiva a futuro, se trabajará buscando cepas resistentes a dichos antibióticos, para evaluar en que región del ADN se encuentra la mutación que genera la resistencia y así confirmar su blanco de acción.

JU 075

0639 - EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN PROTEICA DE DOS CONCENTRADOS DE TUBERCULINA, DERIVADO PROTEICO PURIFICADO, PARA USO HUMANO DE ORIGEN NACIONAL.

LOVERA, Tania | SLIMOVICH, Rut | ARRIBILLAGA, Sofia | CEJAS, Nahuel | RODRIGUEZ, Gerardo | ARGÜELLES, Claudia

INSTITUTO NACIONAL DE PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS-ANLIS DR. C.G.MALBRAN

Introducción y Objetivos: El Derivado Proteico Purificado de la Tuberculina (PPD), continúa siendo una de las principales herramientas en el diagnóstico de la tuberculosis. Está compuesto por una mezcla compleja de péptidos de diferentes cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, comportándose como antígenos de la micobacteria que desencadenan una reacción de hipersensibilidad retardada (DTH). En el Instituto Nacional de Producción de Biológicos (ANLIS-Malbrán) se produce actualmente PPD 2 UT a partir de un concentrado madre denominado PPD LM08. Anteriormente era utilizado el PPD 1-94 elaborado con las mismas cepas de M. tuberculosis, y el mismo método de producción. A pesar de esto se observaron diferencias de potencia relativa cuando ambos PPD fueron comparados con el estándar internacional de PPD (PPD-S) en pruebas de DTH en modelo animal. Siendo la potencia relativa del PPD 1-94 superior a la del PPD LM-08.

Materiales y Métodos: PPD 1-94 y PPD LM08 fueron igualados a la misma concentración de proteínas por el método de Bradford (2 mg/ml) y analizados por espectrometría de masas (nano HPLC acoplado a un espectrómetro de masas con tecnología Orbitrap).

Resultados: Este análisis arrojó la identificación de 879 proteínas en el PPD1-94, con al menos un péptido único, y 785 para el PPD LM-08 en las mismas condiciones, de las cuales 644 proteínas son compartidas por las dos muestras.

Conclusiones: La variabilidad en el perfil proteico en los reactivos PPD evidencia la diferencia de potencia relativa encontrada entre ambos PPD cuando se comparan con el patrón internacional de PPD y podria explicar las diferencias en las respuestas de DTH.

JU 076

0765 - PREPARACION Y EVALUACION DE UN DERIVADO PROTEICO PURIFICADO A PARTIR DE CEPAS AUTOCTONAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

GIL, Silvina Lucía [1] | LOVERA, Tania[2] | SLIMOVICH, Rut[2] | LAMMER, Mónica[1] | ESPECHE, Javier[1] | ATZORI, Carlos[1] | DELUCHI, Silvana[1] | TORRES, Graciela[1] | BRERO, María Luisa[1] | ARGÜELLES, Claudia[2]

CENTRO NACIONAL DE CONTROL DE CALIDAD DE BIOLÓGICOS, ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; INSTITUTO NACIONAL DE PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS-ANLIS DR. C.G.MALBRAN [2]

Introducción y Objetivos: El derivado proteico purificado (PPD) de la tuberculina es aún utilizado en pruebas cutáneas como herramienta diagnóstica de la tuberculosis. El PPD utilizado en nuestro país es producido a partir de un concentrado proteico denominado LM-08 elaborado con cepas de *Mycobacterium tuberculosis* provenientes del Statens Serum Institut de Dinamarca. Considerando la evolución del *M. tuberculosis* nos propusimos desarrollar un concentrado de tuberculina PPD a partir de cepas autóctonas prevalentes del país que pueda ser empleado en la producción nacional de Tuberculina PPD para uso humano y que reemplace al concentrado actual de producción clásica.

Materiales y Métodos: El concentrado proteico purificado desarrollado, denominado Derivado Proteico Purificado autóctono (PPDa), se elaboró utilizando una selección de cepas de *M. tuberculosis* autóctonas representativas del linaje prevalente en la región.

Resultados: Se observó que la fracción 4 dio respuesta de DTH comparable con la respuesta del PPDa. El análisis de espectrometría de masa arrojó la identificación de 1080 proteínas en el PPDa, con al menos un péptido único, y 785 para el PPD LM-08, en las mismas condiciones, de las cuales 284 proteínas son compartidas por las dos muestras. Ambas muestras contienen un 77 % de proteínas que van en el rango de 10 a 50 kDa. El análisis de las bandas de la fracción 4 correspondieron a las 2 proteínas más abundantes del PPDa: Hspx y 10 kDa chaperonina (GroES). Comparando las 30 proteínas más abundantes de ambas muestras de PPD se pudo observar que el PPDa presenta más antígenos T que el PPD LM-08.

Conclusiones: El conocimiento de la composición del PPD y la respuesta inmunológica de los antígenos individuales en la prueba cutánea darían un indicio para comprender el mecanismo molecular y esto permitiría seleccionar una combinación de proteínas que contribuyan al desarrollo de un reactivo más sensible y específico, como así también estandarizar su producción y control.

JU 077

0862 - RV2577 ES UNA NUEVA METALOFOSFATASA DE MYCOBACTERIUM *TUBERCULOSIS* IMPORTANTE EN LA VIRULENCIA

FORRELLAD, Marina Andrea [1] | MARRERO DIAZ DE VILLEGAS, Rubén[2] | DURÁN, Rosario[3] | VILLARINO RUFENER, Andrea Elizabeth[4] | BIGI, Fabiana[5]

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [1]; IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [2]; INSTITUTO PASTEUR [3]; UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA [4]; IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [5]

Introducción y Objetivos: *Mycobacterium tuberculosis* es el agente causal de la Tuberculosis humana (TB), endémica en nuestro país y una de las 10 principales causas de muerte en el mundo. El control es posible por la vacuna BCG pero sólo protege a individuos jóvenes no a adultos y se ha agravado en países subdesarrollados debido a las condiciones socio-económicas de la población, la prevalencia de co-infección con HIV y la multi-resistencia a los fármacos utilizados. Las micobacterias del complejo *M. tuberculosis* (MTBC) han evolucionado para persistir y sobrevivir en el interior de los macrófagos regulando la expresión de factores de virulencia y modulando a su favor la respuesta inmune del huésped. Las fosfatasas son claves para interrumpir las vías de

señalización de la respuesta inmune. Nuestros estudios se centran en identificar nuevos factores de virulencia en MTBC, determinar su función biológica y el mecanismo por el cual son relevantes en la TB. En estudios previos, en modelos in vivo e ex vivo, se demostró que Rv2577 es un nuevo factor de virulencia de M. tuberculosis. Estudios in silico muestran homología con fosfatasas ácido púrpura (PAP) y un dominio metalofosfoesterasa (MPP) típico, con 7 residuos invariables en 5 dominios conservados ($D_1$73-(X)-G$D_2$17-(X)$_2$-$Y_2$20-(X)-G$N_2$53H[E/D]-(X)-H$_3$48-(X)-G$H_3$85X$H_3$87) que coordinan un centro bimetálico. Nuestro objetivo es caracterizar bioquímica, estructural y funcionalmente a Rv2577 de *M. tuberculosis*.

Materiales y Métodos: Se expresó Rv2577 en *M. smegmatis* como fusión a histidinas y hemaglutinina (HA), se purificó por IMAC-Ni^+2 y determinó la actividad bioquímica frente al sustrato pNPP. La localización subcelular se observó por WB y confirmó por análisis proteómico en Orbitrap. La estructura tridimensional se modeló con i-tasser a partir de 1xzw y por mutación sitio dirigida por Ala se determinó la relevancia de los residuos del sitio catalítico en la actividad de la enzima.

Resultados: En relación con la presencia de un dominio TAT, Rv277 se localizó principalmente en la pared celular, unas 1250veces más respecto de la proteína en la fracción de citoplasma. Presentó una mayor actividad catalítica a pHs alcalinos (pH 8 y 9) similar a otras MPP de MTBC y de otras bacterias. La estructura tridimensional permitió definir un sitio catalítico típico de MPP en donde los residuos D173, D217, Y220 y H387 coordinan el Fe^+3; N253, H348, H385 un catión Mn^+2 y D217, K434, N358 participan en el puente Mn–O–Fe con el sustrato. La mutación de esos residuos por Ala generó una disminución del 80% la actividad de la enzima, siendo cada uno claves en la actividad catalítica, confirmando su estructura tridimensional.

Conclusiones: En conjunto, los resultados demuestran que Rv2577 es un factor de virulencia clave en micobacterias por su función metalofosfatasa. Al igual que otras MPP y debido a su localización extracelular en la pared, podría regular los niveles de ésteres fosfóricos (como nucleótidos cíclicos), modulando así la respuesta inmune del huésped.

JU 078

0816 - CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE *BACILLUS CALMETTE-GUERIN* CAUSANTES DE REACCIONES ADVERSAS POST-VACUNACIÓN EN NIÑOS.

ARRIBILLAGA, Sofia [1] | LOVERA, Tania[1] | PAUL, Roxana[2] | REIJTMAN, Vanesa[3] | LÓPEZ, Beatriz[2] | ARGÜELLES, Claudia[1]

SERVICIO DERIVADOS DE MICOBACTERIAS. INPB. ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; SERVICIO DE MICOBACTERIAS, INEI, ANLIS "C. G. MALBRÁN" [2]; DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, HOSPITAL GARRAHAN, [3]

Introducción y Objetivos: La vacuna de *bacillus Calmette-Guerin* (BCG), preparado de bacilos vivos atenuados de *Mycobacterium bovis*, se utiliza para prevenir las formas graves de tuberculosis (TB). Fue utilizada por primera vez en 1921 y luego la cepa denominada Pasteur fue distribuida a los laboratorios productores del mundo y preservada por replicación en cultivo, resultando por deriva genética en una cantidad de cepas hijas (subcepas) hasta que este proceso se detuvo en 1966 por la introducción de la liofilización del sistema del lote semilla.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 74 aislamientos de BCG de casos de BCGitis diagnosticados en el laboratorio del Hospital de Pediatría Prof. Dr. Pedro Garrahan entre enero de 1996 y diciembre de 2012. La identificación de las subcepas se realizó mediante una PCR múltiple que amplificó 6 regiones genómicas diferentes. Estas regiones incluyeron la región RD1, ausente en todas las subcepas de BCG, y otras regiones de deleción ausentes en algunas subcepas de BCG.

Resultados: El 61 % de las cepas resultaron ser subcepa Pasteur 1173P2, 28 % subcepa Russian y 11 % subcepa Danesa 1331. Considerando que la subcepa Pasteur 1173P2 es aplicada solamente en provincia de Bs As, indicaría ser la que produce más casos de efectos adversos en la población estudiada.

Conclusiones: Si bien nuestros resultados coinciden con lo expuesto en la bibliografía donde ya es sabido que las subcepas Pasteur 1173P2 y Danesa 1133 inducen más reacciones adversas que otras subcepas, un factor importante a considerar es la dosis aplicada. La cantidad de bacilos viables aplicada en la vacuna subcepa Pasteur 1173P2 es mayor que en la aplica en las otras vacunas BCG, motivo por el cual podría ser también un factor a considerar en el mayor porcentaje de efectos no deseados post vacunación.

CAM - Micología clínica

JU 079

0420 - COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS COLORIMÉTRICOS PARA LA DETECCIÓN DE BIOPELÍCULAS DEL COMPLEJO *CANDIDA PARAPSILOSIS*

VERA, Mariana Belén[1] | ASKENAZI, María Viviana[1] | IRRAZABAL, Liliana Andrea[1] | BENÍTEZ ÁLVAREZ, Leicy Elizabeth[1] | **KLEKAILO, Katya María Irina** [1] | SALVATIERRA, Karina Alejandra[2] | VEDOYA, María Celina[1]

LAB. DE MICOLOGÍA. FACULTAD DE CS. EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES. UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES. [1]; GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA APLICADA (GIGA)-IBS-CONICET, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES. [2]

Introducción y Objetivos: *Candida parapsilosis sensu lato (s.l.)* es un complejo de especies diferenciables únicamente por estudios moleculares: *C. parapsilosis sensu stricto (s.s.)*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*. Se trata de levaduras oportunistas cuya capacidad infectiva reside en factores de virulencia como la formación de biopelículas, que se definen como comunidades de microorganismos rodeados de matriz extracelular polisacárida que proporciona protección y resistencia. La formación es cepa dependiente y ocurre por rutas de transducción de señales. Las biopelículas pueden formarse *in vitro* y para su detección se emplean métodos colorimétricos. El objetivo de este trabajo fue comparar la sensibilidad de dos métodos de coloración de biopelículas formadas por cepas de *C. parapsilosis s.l*.

Materiales y Métodos: Para los ensayos de formación de biopelículas se emplearon 11 cepas identificadas molecularmente como *C. parapsilosis s.s.*, 2 *C. metapsilosis*, *C. parapsilosis* ATCC22019 y 3 controles positivos. Se siguió el protocolo propuesto por Laffey & Butler (2005), en 2 placas de microtitulación con caldo YPD con dextrosa al 8% como medio, y 3 réplicas por cepa/placa. Un método de coloración consistió en agregar a una placa 200µL/pocillo de solución de safranina al 1%, 15min. En la otra placa se añadió igual volumen de solución acuosa de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (CTT) al 2%, 1h cubierto con papel aluminio. Se lavaron las placas con PBS. Se leyeron absorbancias a 490nm en un lector de ELISA *Rayto RT2100C*, se realizó la estimación de medias y desviaciones estándar, se compararon los valores por ANOVA (p = 0,05 y p = 0,01, prueba t). Se calculó la transmitancia y el porcentaje de bloqueo (%B).

Resultados: Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en 70% de las cepas (p = 0,05) y en 46% (p = 0,01). Las 2 cepas identificadas como *C. metapsilosis* no mostraron ser formadoras de biopelículas (%B inferior a 5) en la coloración con safranina, pero sí formadoras débiles (%B entre 5-20) en el ensayo con CTT. 2 cepas identificadas como *C. parapsilosis s.s.* mostraron ser formadoras intermedias de biopelículas (%B entre 20-50) en la coloración con safranina, y fuertes formadoras (%B superior a 50) en el ensayo con CTT. 61% de las cepas, si bien presentaron diferencias de acuerdo al método de coloración, algunas estadísticamente significativas, se clasificaron dentro del mismo grupo, ya sea como débiles, intermedias o fuertes formadoras de biopelículas; todas las cepas identificadas como *C. parapsilosis s.s.* mostraron ser formadoras en diferente grado.

Conclusiones: El ensayo con CTT mostró mayor sensibilidad en cuanto a la detección de biopelículas, sin embargo es necesario expandir los experimentos a un mayor número de cepas para obtener datos que demuestren dicha sensibilidad con más significancia.

JU 080

0452 - DERMATOFITOSIS EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (2013-2018)

MAZZA, Mariana [1] | ZULIANI, María Victoria[2] | REFOJO, Nicolás[1] | DAVEL, Graciela Odelsia[1] | RMPBA, Grupo[2]

DEPARTAMENTO MICOLOGÍA, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS "DR. C. G. MALBRÁN", ANLIS [1]; LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES [2]

Introducción y Objetivos: Las dermatofitosis son las micosis superficiales más frecuentes en la población mundial y representan un importante problema sanitario debido a su alta morbilidad. En Argentina la prevalencia de las micosis superficiales fue 34,7 cada 100.000 habitantes en 2010, y el 73,8% de ellas fueron dermatofitosis. En la provincia de Buenos Aires el 70,2% de las micosis superficiales fueron causadas por dermatofitos en el período 2002-2007. Los agentes etiológicos fueron *Trichophyton rubrum* (47%), *T. mentagrophytes* (26%), *Microsporum canis* (23%), *T. tonsurans* (2,2%), *M. gypseum* (2,1%), *Epidermophyton floccosum* (1,4%) y *T. verrucosum* (0,4%). Objetivos: Determinar la frecuencia de las dermatofitosis dentro de las micosis superficiales notificadas por los laboratorios de la Red de Micología de la provincia de Buenos Aires (RMPBA) en el periodo 2013-2018, establecer la frecuencia relativa de sus agentes etiológicos y detectar eventuales cambios respecto al periodo 2002-2007.

Materiales y Métodos: En el período 2013-2018, los laboratorios de la RMPBA, registraron las micosis diagnosticadas, siguiendo los criterios preestablecidos por el laboratorio de Referencia Provincial. Los datos se remitieron al Laboratorio de Referencia Nacional, donde se analizaron. Para determinar las diferencias entre las frecuencias de los agentes etiológicos en dos períodos (2002-2007 y 2013-2018) se realizó el test Chi-cuadrado con un nivel de significancia del 5%. El análisis estadístico se realizó cuando la frecuencia fue superior a 30.

Resultados: Entre 2013 y 2018 se notificaron 3785 micosis superficiales procedentes de 30 laboratorios de la RMPBA. Dos mil novecientos tres casos (76,7%) correspondieron a dermatofitosis. La identificación a nivel de especie de los agentes etiológicos de las dermatofitosis se realizó en el 62% de los casos (1799). La frecuencia de cada especie, en orden decreciente, fue: 60% *T. rubrum*, 17% *M. canis*, 14% *T. mentagrophytes*, 4% *T. tonsurans*, 3% *M. gypseum*, 1,3% *T. verrucosum*, 1% *Epidermophyton floccosum* y 0,1% *T. violaceum*. Las diferencias de las frecuencias obtenidas al comparar los dos períodos resultaron estadísticamente significativas. Se observan también diferencias en el orden de frecuencia de los agentes etiológicos con respecto a lo obtenido en el período 2002 y 2007. *Microsporum canis* resultó segundo en orden de importancia seguido de *T. mentagrophytes*.

Conclusiones: Las dermatofitosis continúan siendo las micosis superficiales más frecuentes, ocasionando alrededor del 80% de las micosis superficiales. *Trichophyton rubrum* fue el dermatofito más frecuentemente aislado, lo que coincide con estudios anteriores y es una tendencia mundial en las grandes urbes. *Microsporum canis* y *T. mentagrophytes* afectan en frecuencias similares, pero en esta oportunidad fue mas frecuente *M. canis*, lo que no coincide con el estudio realizado en 2002-2007. El resto de los agentes etiológicos aparecen en baja frecuencia ocasionando <=4% de las infecciones.

JU 081

0454 - IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIFÚNGICA DE LEVADURAS DEL COMPLEJO *CANDIDA GLABRATA*

FUNES, Paula[1] | AMIGOT, Susana[1] | BIASOLI, Marisa[1] | PAULA, Capece[2] | LOPEZ, Silvia[3] | POSSE, Gladys[4] | **PODESTA, Maria Virginia** [1] | STECKINGER, Agustina[1] | TOSELLO, Maria Elena[1] | CASTELLI, Victoria[5]

CEREMIC, FACULTAD DE CS BIOQUIMICAS Y FARMACEUTICAS. UNR [1]; HOSPITAL NACIONAL POSADAS [2]; CATEDRA DE FARMACOGNOSIA. FACULATD DE CS BIOQUIMICAS Y FARMACEUTICAS. UNR [3]; HOSPITAL NACIONAL POSADAS [4]; CATEDRA DE FARMACOGNOSIA. FACULATD DE CS BIOQUIMICAS Y FARMACEUTICAS. UNR [5]

Introducción y Objetivos: El complejo Candida glabrata comprende tres especies: *Candida nivariensis*, *Candida bracarensis* y *Candida glabrata* sensu stricto, todas ellas causantes de infecciones en humanos. Los métodos fenotípicos usados en la actualidad, sean los medios cromogénicos, la asimilación de trealosa o el panel ID32C, no son capaces de diferenciar las tres especies del complejo y se requieren técnicas moleculares para lograr su correcta identificación. El objetivo de este trabajo fue comparar dos métodos de identificación - MALDI-TOF y secuenciación de la región ITS- y determinar la susceptibilidad a antifúngicos de las levaduras en estudio.

Materiales y Métodos: Se trabajó con 30 cepas aisladas de: flujo vaginal [12], hemocultivos [5], biopsias [4], partes blandas [3], líquidos de punción [2], abscesos [2], herida pie DBT [1] y orina [1]. Inicialmente las cepas fueron identificadas como *C. glabrata* por CHROMagar, agar harina de maíz y VITEK 2C. La identificación definitiva se realizó por MALDI-TOF y PCR empleando los cebadores universales ITS1 e ITS4 seguida de secuenciación y comparación con secuencias de bases de datos curadas (GenBank, CBS-KNAW).

Resultados: Ambos métodos mostraron un 100% de concordancia en la identificación; se obtuvieron: 27 *C. glabrata* sensu stricto (90%), 2 *C. nivarensis* (herida pie DBT y orina, 6,6%) y 1 *C. bracarensis* (flujo vaginal, 3,3%). Para el estudio de sensibilidad antifúngica se utilizó VITEK 2C (materiales profundos y orinas) y pastillas ROSCO Neo Sensitabs (flujos vaginales). Al determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM), las cepas evaluadas por VITEK 2C presentaron sensibilidad intermedia al fluconazol y fueron sensibles a anfotericina B y micafungina. Las cepas provenientes de flujo vaginal presentaron sensibilidad intermedia al fluconazol, siendo sensibles a nistatina y a itraconazol, por el método de difusión en placa. Las especies crípticas *C. nivariensis* y *C. bracarensis* representan un pequeño porcentaje de los aislados identificados fenotípicamente como *C. glabrata*. El perfil de sensibilidad obtenido para las especies *C. bracarensis* y *C. nivariensis* fue similar al observado para *C. glabrata* sensu stricto.

Conclusiones: Estos hallazgos concuerdan con los obtenidos en estudios epidemiológicos nacionales previos (Morales López et al. Mycopathologia 181, 2016, 871-878). Los métodos genómicos y proteómicos permiten la identificación de estas especies crípticas y aportan datos sobre su epidemiología y podrían ser potenciales patógenos.

JU 082

0633 - FIFTEEN-YEARS SURVEILLANCE OF CANDIDEMIA: INCIDENCE RATES AND SPECIES DISTRIBUTION AT A TERTIARY CARE HOSPITAL IN SOUTHERN BRAZIL

CELESTINO DE SOUZA, Ândrea | ORLANDI BARTH, Patricia | LUTZ, Larissa | BRASIL DA SILVA, Matheus | DE SOUZA SAMPAIO, Paulo André | CASTRO PEREIRA, Dariane | WURDIG ROESCH, Eliane | RODRIGUES AQUINO, Valério

UNIDADE DE MICROBIOLOGIA, SERVIÇO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Introduction and objectives: A *Candida* sp. bloodstream infection is one of the leading cause of healthcare-associated infections and mortalities. It is associated with high cost treatment and prolonged hospital stay. Understanding candidemias epidemiology is important to optimized treatment and have better outcome. The present study aimed at investigating epidemiology and incidence of *Candida* sp. in a tertiary care hospital.

Materials and methods: Retrospective study was conducted at a tertiary care hospital located in Porto Alegre, south of Brazil, from January 2005 to April 2019. All the consecutive patients with candidemia were included. Only one isolate per patient was considered. The blood culture were incubated in BACT/ALERT® System (bioMérieux) and the identification of the species was performed through Vitek®2 or Vitek MS System (bioMérieux). PASW software v.18 (IBM; USA) was used to statistical analysis.

Results: A total of 851 *Candida* spp. were identified: 312 (37%) *Candida albicans*, 260 (31%) *Candida parapsilosis* Complex, 101 (12%) *Candida tropicalis*, 76 (8.9%) *Candida glabrata*, 47 (5.5%) *Candida krusei*, 17 (2.0%) *Candida guilliermondii*, 9 (1.1%) *Candida famata*, 7 (0.8%) *Candida dubliniensis*, 6 (0.7%) *Candida pelliculosa*, 4 (0.5%) *Candida lusitaniae*, and 7 (0.8%) another species. In 6 of the cases, identification of species could`t be obtained. Among these isolates, 618 (72.6%) were from adult patients and 233 (27.4%) from pediatric patients. Of the adults, 266 (43.0%) were in the ICU and 34 (5.5%) were in the onco-hematologic ward. In these units, the highest incidence was of *C. albicans* (111 cases, 41.7%) and *C. krusei* (12 cases, 35.3%), respectively. Of the pediatric patients, 84 (36.0%) were in a oncology ward, 59 (25.3%) in the ICU and 35 (15.0%) in the neonatal ICU. In the oncology unit and ICU, the highest species incidence were *C. parapsilosis* Complex (48 cases, 57.1% and 23 cases, 39%; respectively). In neonatal ICU, the highest species incidence was *C. albicans* (16 cases, 45.7%). There was a significant difference in the distribution of species among hospital units ($p < 0.01$). During this period, the incidence rate of candidemia ranged from 0.160 to 0.297 cases/1000 patient-days (median of 0.233 cases/1000 patient-days). Among the *Candida* species, the incidence rate of *C. albicans* ranged from 0.045 to 0.116 cases/1000 patient-days (median of 0.081 cases/1000 patient-days); *C. parapsilosis* complex from 0.029 to 0.125 cases/1000 patient-days (median of 0.073 cases/1000 patient-days); *C. tropicalis* from 0.008 to 0.044 cases/1000 patient-days (median of 0.026 cases/1000 patient-days); *C. glabrata* from 0.008 to 0.033 cases/1000 patient-days (median of 0. 022 cases/1000 patient-days) and *C. krusei* from 0.004 to 0.024 cases/1000 patient-days (median of 0.013 case/1000 patient-days).

Conclusions: There was no increase in the incidence rate of candidemia during this period. However, it was observed that *Candida* species are distributed differently in hospital units.

JU 083

0641 - EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE ACEITES ESENCIALES CON AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *CANDIDA AURIS*

MONTOYA GOMEZ, Yuliana[1] | BERRIO MEDINA, Indira[2] | GÓMEZ VELÁSQUEZ, Juan Carlos[3] | **MESA ARANGO, Ana Cecilia** [1]

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA [1]; HOSPITAL GENERAL Y MEM CIB [2]; LABORATORIO CLÍNICO PROLAB. S.A.S [3]

Introducción y Objetivos: Recientemente se ha notificado la emergencia de *Candida auris*, causando infecciones aisladas y epidemias en diferentes regiones del mundo. El principal hallazgo de esta especie ha sido en casos de infecciones invasivas, principalmente en salas de cuidado intensivos. *C. auris* es resistente o poco sensible a los principales antifúngicos utilizados para el tratamiento de las infecciones por levaduras del género. Además, tiene la capacidad de formar biopelículas sobre dispositivos médicos con el consecuente riesgo del desarrollo de candidemia. En diferentes aceites esenciales se ha demostrado actividad anti-*Candida*. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antifúngica in vitro de siete aceites esenciales de diferentes plantas aromáticas y medicinales recolectadas en Colombia, contra aislamientos clínicos de *C. auris*.

Materiales y Métodos: Se evaluó la actividad antifúngica in vitro de siete aceites esenciales de las plantas *Lippia origanoides, Elettaria cardamomum, Citrus sinensis, Cymbopogon nardus, Cymbopogon martinii, Lippia alba* y *Cymbopogon citratus*, de acuerdo con el protocolo CLSI M27 4th edición, con 21 aislados clínicos de *C. auris*. Todos los aceites se evaluaron a una concentración de 500 µg/mL y se consideraron activos aquellos en donde se observó inhibición de crecimiento entre el 90 y 100 %. Posteriormente se determinó la CMI para 10 aislados. Como control de los experimentos se utilizaron las cepas *C. krusei* ATCC 6258 y *C. parapsilosis* ATCC 22019 con itraconazol y anfotericina B.

Resultados: Se observó actividad antifúngica en cinco aceites correspondientes a las siguientes plantas: *L. origanoides, C. martinii, L. alba, C. citratus* y *C. nardus* a la mayor concentración (500 µg/mL). Posteriormente se realizó la CMI de estos aceites y los valores oscilaron en el rango entre <= 8 y 128 µg/mL, para los cuatro primeros aceites. Los valores de las CMI con las cepas de referencia se ubicaron en los rangos sugeridos por el

protocolo; con itraconazol 0,5 y 0,25 µg/mL para *C. krusei* ATCC 6258 y *C. parapsilosis* ATCC 22019, respectivamente. Para anfotericina B fue 0,5 µg/mL con ambas cepas.

Conclusiones: Se demostró actividad anti-*C. auris* de cinco aceites esenciales de plantas aromáticas y medicinales. Estos resultados serán considerados para posteriores trabajos con miras al desarrollo de productos para la descolonización de superficies o dispositivos médicos.

JU 084
0676 - CRIPTOCOCOSIS MENÍNGEA Y LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

MONTOTO, Mariana [1] | SCORZATO, María Laura[1] | ALONSO, Matias[2] | PEIRANO, Marcelo[2] | MILLARA, Monica[1]

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS J. M. PENNA [1]; SERVICIO DE NEUROCIRUGIA HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS J. M. PENNA [2]

Introducción: La criptococosis es una micosis causada por levaduras patógenas oportunistas pertenecientes al Complejo *Criptococcus neoformans*. Se caracterizan por afectar inicialmente pulmones y después diseminarse piel y vísceras, con una clara predilección hacia el SNC. Su presentación más común es la meningoencefalitis y su agente causal predominante es el *Criptococcus neoformans*. Se asocia en más del 90% de los casos a pacientes con SIDA, pero también puede afectar pacientes con alteración de la inmunidad celular, como en Lupus eritematoso sistémico (LES). Junto a la histoplasmosis son las causas micóticas más frecuentes en el paciente lúpico, donde la infección del SNC constituye el 3% de todas las infecciones.

Caso Clínico: Mujer de 40 años, nacionalidad paraguaya, consulta a la guardia por presentar cefalea holocraneana opresiva, náuseas, vómitos alimentarios y alteración de la marcha de 3 meses de evolución, hemodinámicamente estable y sin foco meníngeo. Resultados de laboratorio dentro de los parámetros normales. Hepatitis C, Hepatitis B, Chagas, VDRL y HIV: no reactivas. Líquido cefalorraquídeo (LCR) con fisicoquímico normal, tinta china negativa, no se observaron gérmenes al directo y los cultivos resultaron negativos. Como antecedente la paciente refiere diagnóstico de LES hace 17 años, con tratamiento intermitente y sin seguimiento a la fecha. Se realiza TAC de cerebro, que evidencia hidrocefalia holoventricular, motivo por el cual fue evaluada e intervenida por el servicio de neurocirugía, quien coloca una Derivación ventrículo peritoneal (DVP) con buena evolución clínica. Es dada de alta y continúa seguimiento por el servicio de neurocirugía con sospecha de Malformación de Chiari. Indicaciones al alta: Ibuprofeno, Enalapril y Meprednisona por 14 días con disminución gradual de la dosis. Cinco días más tarde reingresa por el servicio de Guardia presentando vómitos, ataxia de la marcha y luego fiebre. Se inicia tratamiento empírico con Vancomicina, Meropenen y Fluconazol. Se realiza TAC y se toma LCR del reservorio ventricular. Presenta hipoglucorraquia, hiperproteínorraquia e hipercelularidad. Al examen directo se observan levaduras. El test de inmunocromatografia para la detección de antígeno capsular *Criptococcus neoformans* resulta positivo. A las 48 horas desarrolla en cultivo, se lo identifica por sistema Vitek2C Biomerieux YST/AST-YS08. La paciente fallece en término de 24 hs por cuadro de Sepsis- Encefalitis.

Conclusiones: La meningitis por *Criptococcus neoformans* es inusual, pero una reconocida y fatal complicación en personas con LES. La mortalidad en pacientes lúpicos infectados con Criptococos alcanza hasta el 60% y la mayoría fallece en los primeros días de infección. Destacamos la importancia de la búsqueda de estos patógenos en inmunocomprometidos y del buen uso de las técnicas disponibles, de alta sensibilidad de detección, que en este tipo de patologías resulta útil para orientar el diagnóstico con alta eficacia y tomar la conducta más apropiada.

JU 085
0758 - DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LAS MICOSIS BRONCOPULMONARES EN ARGENTINA. EXPERIENCIA DE 18 AÑOS DE PROVISIÓN DE REACTIVOS.

VIALE, Mariana Noelia [1] | VIVOT, Flavia Gisele[1] | TORANZO, Adriana Inés[1] | LOPEZ-JOFFRE, Maria Cecilia[1] | SALAS, Héctor Damián[1] | MAZZA, Mariana[1] | MOTTER, Andrea Nora[1] | DAVEL, Graciela Odelsia[1] | CANTEROS, Cristina Elena[1] | DSRNLM, Grupo[2]

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE MICOLOGÍA [2]

Introducción y Objetivos: Las micosis broncopulmonares son un importante problema sanitario mundial, y entre ellas las de mayor relevancia en Argentina son la histoplasmosis (HP), la paracoccidioidomicosis (PCM), la coccidioidomicosis (CM) y la aspergilosis (ASP). Desde el año 1998, el Laboratorio de Referencia de la Red Nacional de Laboratorios de Micología (RNLM) produce y distribuye, de manera gratuita a las instituciones públicas de salud del país, antígenos y antisueros fúngicos que permiten el diagnóstico de éstas micosis por inmunodifusión (ID). Esta técnica rápida y de fácil ejecución se utiliza para diagnosticar dichas micosis en pacientes con capacidad de producir anticuerpos. Desde 2001, cada vez que un laboratorio solicita reactivos, el responsable debe completar un formulario indicando las determinaciones realizadas con los reactivos recibidos

en el pedido anterior, el número de sueros positivos por antígeno y si se utilizó para diagnóstico o seguimiento del paciente.

Materiales y Métodos: Se analizaron los formularios recibidos entre 01/2001 y 12/2018 de los laboratorios de la RNLM, con un total de 61547 sueros estudiados.

Resultados: En los primeros años de registro (2001-2002) se diagnosticaron 203 micosis en 26 instituciones de 15 jurisdicciones del país. Los datos más recientes indican que entre 2017-2018 las micosis diagnosticadas fueron 447, en 41 instituciones de 17 jurisdicciones. En todo el periodo estudiado se diagnosticaron 2876 micosis, de las cuales la más frecuentemente diagnosticada fue la ASP con 1117 casos (39%), principalmente se detectaron anticuerpos anti-*Aspergillus fumigatus* en el 68% de los casos, seguida de anti-*A. niger* y anti- *A. flavus* con 14% cada uno y en un 4% se detectaron anticuerpos para más de una especie de *Aspergillus*. En segundo lugar se diagnosticaron 991 casos (34%) de PCM en pacientes de las provincias del Chaco, Formosa, Misiones, Corrientes, Santa Fe, Entre Ríos y Salta. La HP fue la tercera con 436 casos (15%), la mayoría concentrados en Buenos Aires, CABA, Córdoba, Santa Fe, Tucumán, Misiones, Chaco, Salta y Jujuy. Por último, de los 332 casos de CM (12%), el 85% se diagnosticaron en Catamarca, la mayor área geográfica endémica de la enfermedad en Argentina. El total de serologías realizadas para seguimiento y control de tratamiento fue de 477 (196 PCM, 178 ASP, 67 HP y 36 CM).

Conclusiones: La provisión de reactivos para ID de hongos y la información recibida desde los laboratorios que utilizan nuestros reactivos nos permite obtener datos epidemiológicos (aunque parciales) de las micosis broncopulmonares. Los resultados muestran un aumento de más del doble de micosis diagnosticadas entre los primeros años de provisión y la actualidad. La PCM ocupa el segundo lugar, ya que no tiene tanta asociación con población inmunocomprometida grave como la HP, donde el porcentaje de pacientes que producen anticuerpos es bajo.

JU 086

0790 - EVALUACIÓN DE MÉTODOS MOLECULARES EN EL DIAGNÓSTICO DE HISTOPLASMOSIS EN PACIENTES HIV NEGATIVO. ESTUDIO RETROSPECTIVO 2006-2018.

LOPEZ-JOFFRE, Maria Cecilia [1] | TORANZO, Adriana I[1] | SALAS, Héctor Damián[1] | VIALE, Mariana N[1] | VIVOT, Flavia G[1] | CANTEROS, Cristina E[1] | RNLM, Grupo[2]

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE MICOLOGIA [2]

Introducción y Objetivos: La histoplasmosis (HP), causada por *Histoplasma capsulatum*, es la cuarta micosis profunda asociada a población inmunocomprometida en Argentina. El EORTC/MSG define HP-probada cuando existe confirmación por cultivo o cito-histología e HP-probable cuando existen factores predisponentes en el hospedero, un cuadro clínico compatible y detección de antígeno en orina o anticuerpos en suero. Las técnicas de PCR por sí solas, sumadas a un cuadro clínico compatible de HP y factores predisponentes del hospedero también pueden definir una HP-probable, sin embargo, pocos estudios focalizan en la utilidad de éstas técnicas en el diagnóstico de HP en pacientes HIV negativo (PHIV-).

Materiales y Métodos: Se revisaron los registros de 962 pacientes cuyas muestras clínicas fueron derivadas al laboratorio Nacional de Referencia de Micología para el diagnóstico diferencial de HP por PCR desde 01-2006 hasta 12-2018.

Resultados: Del total de pacientes, 460 (47,8%) eran HIV positivo, 343 (35,6%) no tenían inmunocompromiso aparente (PNICA) al momento del estudio y 159 (16,5%) tenían inmunocompromiso grave (PICG) por enfermedad de base inmunológica o tratamientos prolongados con altas dosis de corticoides, otros inmunosupresores e inmunobiológicos. De cada PHIV- se revisaron los estudios micológicos clásicos (cito-histológicos y/o cultivos y/o detección de anticuerpos anti-Histoplasma) y cuál fue el diagnóstico final. Se consideraron los resultados de las dos técnicas moleculares realizadas en nuestro laboratorio: PCR en tiempo real que amplifica una región del ITS1 específica de *H. capsulatum* y una PCR anidada que amplifica una región del gen HcP100 también específica del hongo. Se evaluaron las PCR de forma conjunta, en el caso de resultados discordantes entre ambas se analizó una nueva muestra y/o más de un material del paciente. De los 502 PHIV, 183 (36,4%) tenían HP probada/probable, de éstos, en ocho no se detectó ADN de H. capsulatum en ninguna muestra. Entre los 319 pacientes sin HP, en cuatro se detectó ADN de *H. capsulatum*; estos pacientes fueron diagnosticados: uno con aspergilosis, otro con leishmaniasis, otro tuvo una prueba de PPD positiva y en el cuarto no se pudo establecer el diagnóstico. La sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) fueron de 95,6%, 98,7%, 97,8% y 97,5%, respectivamente. Cuando se analizaron las poblaciones por separado los valores de S, E, VPP y VPN fueron 95,0%, 98,7%, 97,4%, y 97,4% para PNICA y de 96,9%, 98,9%, 98,4% y 97,9% para PICG.

Conclusiones: Los métodos moleculares demostraron ser una excelente herramienta para complementar y agilizar el diagnóstico de la HP en PHIV- mostrando valores de S, E, VPP y VPN superiores al 95%. En algunos casos la PCR positiva fue la única prueba con la que se contó para diagnosticar una HP probada/probable y decidir el tratamiento específico.

JU 087
0793 - MUCORMICOSIS POR *RHIZOPUS ARRHIZUS*

NARDÍN, María Elena | MANIAS, Valeria | MENDOSA, Maria Alejandra | RAMOS, Claudia | CRISTOBAL, Sabrina | MACAGNO, Daniela | NAGEL, Alicia

HOSPITAL DR. JOSE CULLEN

Introducción: La mucormicosis es una enfermedad de baja prevalencia frecuentemente fatal y rápidamente progresiva causada por hongos de la familia *Mucoraceae* del orden mucorales. Se trata de una patología severa y oportunista que afecta principalmente a pacientes diabéticos e inmunosuprimidos

Caso Clínico: Se presenta el caso de un paciente de sexo masculino de 51 años , etilista y diabético, proveniente del interior de la provincia de Santa Fe. Concurrió en el mes de octubre de 2018 al centro de salud de su zona con fiebre de 7 días de evolución y cefalea occipital con reproducción a la digitopresión en maxilares. Se le administró amoxicilina/clavulánico por sospecha de sinusitis. A los 4 días comenzó con vómitos, parálisis facial periférica y rigidez de nuca sin foco neurológico. Se indicó tratamiento con ceftriaxona, clindamicina, aciclovir y prednisona. Por mala evolución consultó a un centro de nuestra ciudad donde se realizó TAC de cráneo. Ésta mostró senos nasales izquierdos ocupados con signos sugerentes de alteraciones crónicas y agudas. Se interpretó como celulitis orbitaria retroseptal y se derivó al hospital Cullen, donde se diagnosticó sinusitis, meningitis y trombosis de seno cavernoso. Estudio de fondo de ojo reveló retina y nervio óptico atrófico. Se tomaron muestras de sangre, orina y LCR para cultivo los que resultaron negativos. Se solicitó videoendoscopía y toma de muestra de material necrótico del seno maxilar izquierdo y se envió a anatomía patológica y a la sección microbiología. En el cultivo bacteriológico no hubo desarrollo. En el examen micológico directo se observó hifas anchas poco tabicadas coincidiendo con lo informado por anatomía patológica. En el micocultivo desarrolló un hongo filamentoso de crecimiento rápido identificado como *Rhizopus* spp. Se envió al Instituto C. Malbrán donde se confirmó *Rhizopus arrhizus* y se realizó CIM a posaconazol. A la semana siguiente se practicó desbridamiento endoscópico seguido de toilette de material necrótico de fosa nasal y senos maxilar y etmoidal. Se indicó clindamicina, ceftriaxona y anfotericina. Un mes después de su ingreso se dió el alta con tratamiento de posaconazol.

Conclusiones: Con la presentación de este caso destacamos la importancia de considerar esta entidad ya que se trata de una infección rapidamente progresiva y fatal aún con tratamiento agresivo. Su sospecha es crucial para un diagnóstico precoz e inicio de tratamiento antifúngico con desbridamiento quirúrgico y seguimiento del paciente controlando su enfermedad de base.

JU 088
0794 - PRODUCCIÓN DE UN ANTÍGENO RECOMBINANTE PARA EL DIAGNÓSTICO DE PARACOCCIDIOIDOMICOSIS

CABEZA, Matías S | MACEDO, Daiana | THEILL, Laura | LEONARDELLI, Florencia | GAMARRA, Soledad | **GARCIA EFFRON, Guillermo**

LABORATORIO DE MICOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO MOLECULAR - FACULTAD DE BIOQUÍMICA - UNL-CONICET

Introducción y Objetivos: La paracoccidioidomicosis (PCM) es una infección fúngica sistémica causada por el *Paracoccidioides* spp.. La PCM involucra primariamente al pulmón y luego se disemina a otros órganos y sistemas tales como membranas mucosas, nódulos linfáticos, piel y glándulas suprarrenales. En Argentina, existen dos zonas endémicas, la del noreste (Formosa, Misiones, Chaco, Corrientes, Norte de Entre Ríos y Santa Fe); y la del noroeste (Jujuy, Salta y Tucumán).El diagnóstico estándar de la PCM consiste en la visualización de levaduras multigemantes por examinación directa de muestras clínicas. También se recurre al cultivo, sin embargo este método requiere de largos tiempos de espera, además de representar inconvenientes desde el punto de vista de la bioseguridad. Tanto el diagnóstico por observación directa como por cultivo, requieren de personal capacitado en diferenciación morfológica de microorganismos. Dados estos inconvenientes, las técnicas serológicas constituyen una buena alternativa para el diagnóstico de la PCM. El único método de diagnóstico indirecto disponible en Argentina es una técnica que utiliza un antígeno completo de *P. brasiliensis*, denominado paracoccidioidina, para la detección de anticuerpos en suero. La producción de este antígeno es difícil de estandarizar ya que la calidad del mismo varía con las condiciones del cultivo.

Materiales y Métodos: Se realizó el cultivo del microorganismo y se aisló su material genómico. A partir del ADN, se amplificaron los dos exones presentes en el gen y se realizó una PCR de fusión para obtener la secuencia codificante completa. El paso siguiente fue realizar una mutagénesis dirigida para eliminar un sitio de restricción NdeI que impedía su clonado en el vector de expresión a utilizar. El gen fue secuenciado para confirmar su identidad. La región codificante se clonó en el vector pET28c y se expresó la proteína recombinante fusionada a una etiqueta de histidinas. La proteína se obtuvo en la fracción insoluble por lo cual se desarrolló un protocolo de solubilización y purificación por cromatografía de afinidad a metal inmovilizado en condiciones desnaturalizantes. Se realizó el refoldeo del antígeno mediante diálisis escalonada.

Resultados: La gp43 obtenida resultó antigénica dando reacciones positivas utilizando sueros controles mediante la técnica de DOT BLOT.

Conclusiones: Estos resultados representan un aporte significativo aunque incipiente en los intentos de estandarizar y modernizar el diagnóstico de la PCM en el país. Este antígeno está siendo ensayado en varios formatos diagnósticos (IB, ELISA, DID, etc) contra sueros positivos y negativos previamente caracterizados por métodos de referencia para así calcular los parámetros de sensibilidad y especificidad de cada técnica.

CAM - Microbiología agrícola

JU 089

0027 - ESTUDIOS DE LA ACTIVIDAD NEMATICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMPINELLA ANISUM SOBRE EL ESTADIO J2 DE NACOBBUS ABERRANS Y SU COMPATIBILIDAD CON AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO

SOSA, Ana Laura | GIRARDI, Natalia Soledad | **GARCIA, Daiana** | ETCHEVERRY, Miriam | PASSONE, Maria Alejandra

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO / DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA / FACULTAD DE EXACTAS

Introducción y Objetivos: El nematodo de suelo Nacobbus aberrans (Thorne & Allen) es una de las adversidades bióticas recurrente en los cultivos bajo cubierta, cuya presencia en la zona hortícola de Río Cuarto, se reporta desde la década del 80 hasta la actualidad. Este nematodo fitoparásito es un endoparásito sedentario que causa alteraciones histopatológicas en los tejidos de la raíz, induciendo la formación de agallas, que derivan en la ruptura del xilema y del floema, reflejándose en pérdidas de rendimiento e incluso en la muerte de la planta. El manejo de esta plaga se basa principalmente en la esterilización del suelo con bromuro de metilo (BM), prohibido por la ley provincial de agroquimícos N° 9164; la misma es insuficiente y la sustentabilidad de estos sistemas intensivos está siendo comprometida por los efectos de plaguicidas sobre la biodiversidad y medioambiente. La utilización de extractos botánicos en conjunto con agentes de control biológico podrían ser alternativas ecológicas para el control de esta plaga. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad nematicida del aceite esencial (AE) de Pimpinella anisum (anís) sobre el estadio infectivo J2 de N. aberrans y seleccionar las dosis compatibles con los hongos nemátofagos aislados del agroecosistema hortícola.

Materiales y Métodos: El efecto nematicida del AE de anís se determinó probando un total de 13 concentraciones diferentes. Primeramente dosis más elevadas (1000- 5000 µL L-1) y luego más diluidas (10-800 µL L-1) ya que a las 2 h de incubación se observó el 100% de mortalidad de J2s. El cálculo de los J2s inmóviles fue realizado a las 2, 4, 6 y 24 h de incubación a 25°C. Se realizaron cuatro repeticiones por cada tratamiento y el ensayo se repitió en el tiempo, a fin de determinar los valores de DL50. La compatibilidad de 5 cepas fúngicas con el AE de anís se evaluó sobre la viabilidad de las esporas fúngicas, en el medio de cultivo agar extracto de suelo (AES) mediante la técnica de siembra en superficie. Preliminarmente se evaluaron 4 dosis (25, 50, 97 y 200 µL L-1) del AE anís a las condiciones óptimas de desarrollo fúngico (0,99 aW; 25 °C). Posteriormente se ajustaron las dosis del AE a 50, 97 y 200 µL L-1, considerando, además, el impacto de las variaciones de aW (0,99 y 0,98) y temperatura (20, 25 y 30°C). En el tratamiento control, se adicionó el equivalente de agua destilada estéril. Una alícuota de 0,1 mL de las concentraciones 101 y 102 esporas mL-1, se sembraron en las placas con los distintos tratamientos y se incubaron por 7 días.

Resultados: Mediante el análisis Probit se determinó que 50 µL L-1 es la concentración de AE de anís que inmoviliza irreversiblemente el 50% de los juveniles de segundo estadio de N. aberrans bajo las condiciones probadas en este ensayo, después de 24 h de exposición. El ensayo de compatibilidad mostró que en presencia de 200 µL L-1 del AE de anís, P. lilacinum SR14 redujo significativamente (62%) la viabilidad de las esporas fúngicas. Los recuentos de esporas viables de P. lilacinum SR38, M. robertsii SR51 y P. plurivora SRA14 fueron comparables a los del control, observándose compatibilidad fúngica. Mientras que P. lilacinum SR7 incrementó su desarrollo (11 y 13 %) en interacción con las mayores concentraciones del AE de anís, por lo tanto también demostró ser compatible con el extracto botánico en estudio.

Conclusiones: Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que el AE de anís demostró ser compatible con P. lilacinum SR38, P. lilacinum SR7, M. robertsii SR51 y P. plurivora SRA14 a las concentraciones nematicidas para J2s de N. aberrans, por lo que tienen potencialidad para lograr una estrategia integrada de control biológico.

JU 090

0042 - EVALUACIÓN DEL USO DE *BACILLUS SUBTILIS* EN ESPECIES HORTÍCOLAS

SARTI, Gabriela Cristina [1] | CRISTÓBAL-MIGUEZ, Josefina A.[1] | ALEGRE, Belén A.[1] | RIGAZIO, Cristina[1] | CURÁ, José Alfredo[2]

CÁTEDRA DE QUÍMICA INORGÁNICA Y ANALÍTICA. FACULTAD DE AGRONOMÍA. UBA [1]; CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE AGRONOMÍA. UBA [2]

Introducción y Objetivos: A nivel mundial el consumo de hortalizas frescas cobra cada día mayor importancia. El tomate *Lycopersicum esculentum* y la lechuga *Lactuca sativa* son dos de las hortalizas más difundidas y en segundo lugar las crucíferas como el repollo *Brassica oleracea var. capitata L.* Con el objeto de atender a la demanda de estos productos, incrementando su producción y mejorando su sanidad, se utilizan agroquímicos, cuyo uso excesivo y aplicación en tiempos inapropiados los convierten en un problema para la salud humana y el medio ambiente. Con el propósito de proteger los ecosistemas, minimizando los disturbios que sobre ellos se producen y manteniendo su biodiversidad, se promueve el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) como biofertilizantes, siendo una excelente alternativa a los fertilizantes químicos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* de promover el crecimiento vegetal de las especies hortícolas lechuga, tomate y repollo en su estadío de plantín.

Materiales y Métodos: Se trabajó con la cepa *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* obtenida de la colección de cultivos de la Facultad de Agronomía. Se inocularon semillas de *Lycopersicum esculentum, Lactuca sativa var. Capitata L. y Brassica oleracea var. Capitata L*, desinfectadas en alcohol 70% y lavadas con agua destilada estéril. Las mismas fueron embebidas en un cultivo líquido (papa glucosado) de *B. subtilis* en una concentración 1.108 U.F.C/ml. El sustrato utilizado para la siembra fue una mezcla de tierra fértil y compost en proporción 3:1. El ensayo se realizó en invernáculo en bandejas de germinación (speedling) a una temperatura media de 20°C, durante 25 días. Se midieron parámetros de crecimiento vegetal, masa seca de parte aérea y de raíz. El análisis estadístico se evaluó mediante un ANOVA a una vía y comparación de medias mediante test de Tukey ($p<0,05$).

Resultados: Las plántulas de lechuga cuyas semillas fueron inoculadas con *B. subtilis* mostraron diferencias significativas en el desarrollo de la parte aérea y raíz con respecto a los controles sin inocular. Para el caso de las plántulas de repollo y tomate si bien hay una tendencia positiva que favorece el crecimiento de las plántulas inoculadas esta no resultó significativa con respecto a las plántulas sin inocular (control).

Conclusiones: En los estadíos tempranos del desarrollo de los plantines de lechuga la bacteria mostró efecto promotor del crecimiento vegetal. Sin embargo esto no se evidenció para el caso del repollo y tomate sugiriendo la posibilidad que para esas especie no actúe como PGPR o bien se requiere un período más prolongado del ciclo de vida del vegetal para lograr mayor adaptación y efecto PGPR de la bacteria. *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* podría ser una bacteria adecuada para su uso como biofertilizante.

JU 091

0218 - EFECTO DE LA INOCULACIÓN SIMPLE Y COMBINADA CON RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL Y MICORRIZAS VESÍCULO ARBUSCULARES EN INCAYUYO *LIPPIA INTEGRIFOLIA*

BONETTO, Matias | SALLOUM, María Soraya | OCAMPO, Aylen | **ARCHILLA, Mariela Valeria** | DUBINI, Lucas | CACCIAMANO, Juan Pablo | BRUGO, Florencia | LUCINI, Enrique Ivan

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Introducción y Objetivos: El incayuyo *Lippia integrifolia* es ampliamente utilizado en el noroeste y centro de Argentina por sus propiedades aromáticas. Actualmente, está perdiendo cobertura y se encuentra en peligro de extinción. En los últimos años, la producción de los cultivos depende de la aplicación de agroquímicos y su uso ha generado efectos de contaminación en el ambiente. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) han demostrado capacidad para aumentar o estimular el crecimiento de las plantas actuando como biofertilizantes. Además, las micorrizas vesículo arbusculares (MVA) tienen la capacidad de estimular el desarrollo de las plantas y mejorar la disponibilidad de fósforo. El objetivo fue evaluar el efecto de la inoculación simple y combinada con microorganismos PGPR y MVA sobre el crecimiento y el rendimiento en plantas de incayuyo.

Materiales y Métodos: Se trabajó con plantas recolectadas en el Departamento Cruz del Eje (Córdoba, Argentina). Se utilizó: a) un inóculo compuesto de esporas y micelio de MVA y b) Azospirillum brasiliense y Pseudomonas fluorescens. Para la realización de los bioensayos se utilizaron estacas de incayuyo recolectadas en otoño (abril-2018). Se dispusieron 5 estacas en macetas con sustrato de tierra negra y vermiculita estéril, bajo un sistema de riego tipo niebla en invernadero. Los tratamientos fueron: 1) control sin fertilizante (T); 2) control con fertilizante inorgánico (CQ); 3) A. brasilense (A); 4) P. fluorescens (P); 5) MVA; 6) A+P; 7) A+MVA; 8) P+MVA; 9) A+P+MVA. Una vez enraizadas las estacas, se trasplantaron y se dispusieron en el campo hasta el momento de su cosecha. A los 90 días se recolectaron 5 plantas por tratamiento y se determinó: a) número de raíces; b) altura de planta; c) número y longitud de las ramificaciones; d) colonización micorrícica y e) recuento de microorganismos.

Resultados: Los resultados mostraron que todos los tratamientos tuvieron un efecto positivo en el número de raíces del con respecto al T, presentando el valor más elevado el tratamiento P. El tratamiento A+P+MVA mostró un efecto positivo sobre la altura y longitud de las ramificaciones. Los tratamientos con A y P no mostraron efectos de sinergismo y/o antagonismo. Se observó actividad sinérgica en el tratamiento A+P+MVA, ya que estimuló la colonización micorrícica. No existió efecto antagónico en cuanto a la micorrización.

Conclusiones: Nuestros resultados confirman que las MVA se ven estimuladas al complementarse con bacterias como A. brasiliense y P. fluorescens, y que la triple interacción A+P+MVA afecta de manera positiva el crecimiento aéreo del cultivo de Incayuyo, observándose una marcada acción sinérgica de las MVA y PGPR en la mejora del crecimiento de la planta. Esto sugiere que estos microorganismos pueden ser utilizados como una alternativa para este cultivo, permitiendo una reducción significativa del uso de fertilizantes químicos, ya que estos microorganismos permiten la promoción del crecimiento vegetal aéreo, el cual es de gran interés comercial.

JU 092

0434 - MICORRIZACIÓN NATURAL DEL CULTIVO DE MAÍZ BAJO PRÁCTICAS AGRONÓMICAS DE FERTILIZACIÓN QUÍMICA E INOCULACIÓN CON PGPR

DI SALVO, Luciana | ZAMBRANO SOLEDISPA, Ana | RADIO BRANDONI, Pedro | GAMARNIK, Marile | GARCÍA DE SALAMONE, Inés Eugenia

CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA AGRÍCOLA, FAUBA

Introducción y Objetivos: La intensificación de la producción agrícola, basada en una alta aplicación de insumos, genera una presión excesiva sobre los agroecosistemas. Bajo estas condiciones, ecosistemas proveedores de servicios, tales como la rizósfera de los cultivos, resultan alterados de formas aún no del todo conocidas debido a la complejidad de las interacciones biológicas que allí suceden. De esta forma, el estudio integrado de las diferentes interacciones de los microorganismos del suelo con los cultivos, como el maíz, y las prácticas agrícolas utilizadas en condiciones de campo es de gran relevancia para garantizar en el tiempo la sustentabilidad de los agroecosistemas. Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta agronómica del cultivo de maíz a la fertilización química y la inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y la colonización de éste por hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) nativos.

Materiales y Métodos: Se realizó un ensayo en el establecimiento "El Coronel" ubicado en Pehuajó, Buenos Aires con diseño factorial en bloques completamente aleatorizados. Los factores evaluados fueron: 3 niveles de fertilización nitrogenada (0, 90 y 180 kg de urea/ha) y 5 niveles de inoculación con PGPR (control, inoculante comercial de Laboratorios CKC Argentina SRL mezcla de *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens*, y tres inoculantes experimentales de *A. brasilense* de colección propia, con las cepas 40M, 42M y una mezcla de 40M+42M). En estado de V5 y R3 se tomaron muestras de raíces y suelo rizosférico. A la cosecha del cultivo se evaluó el rendimiento. Las raíces se decoloraron y tiñeron con solución de azul tripán para la determinación de colonización por HFMA mediante observación al microscopio. Las muestras de suelo rizosférico se utilizaron para la extracción de esporas de HFMA, mediante la metodología de tamizado en húmedo y gradiente de sacarosa. Los datos se analizaron mediante ANOVA y comparación de medias por test de Tukey ($p<0,05$).

Resultados: Tanto la inoculación con PGPR como la fertilización nitrogenada generaron aumentos en el rendimiento del cultivo de maíz de entre el 5% y el 40%, dependiendo del nivel de tratamiento aplicado. Resultaba esperable observar algún efecto sobre los microorganismos asociados con el cultivo, tales como los HFMA en simbiosis con las raíces. Sin embargo, las prácticas agronómicas evaluadas no modificaron ni la colonización del cultivo, ni el porcentaje de estructuras fúngicas típicas como arbúsculos, vesículas y esporas, en ninguno de los dos estados ontogénicos evaluados. Asimismo, la inoculación con PGPR y la fertilización nitrogenada tampoco modificaron la diversidad morfológica de esporas de HFMA.

Conclusiones: Teniendo en cuenta que los HFMA constituyen bioindicadores de calidad de suelo, estos resultados permitirían afirmar que las prácticas agronómicas analizadas, en los niveles evaluados, constituyen prácticas agrícolas sustentables para la producción el cultivo de maíz.

JU 093

0448 - INMOVILIZACIÓN DE BACTERIAS BENÉFICAS EN MATRICES POLIMÉRICAS PARA LA FORMULACIÓN DE INOCULANTES MICROBIANOS

FERNÁNDEZ, Macarena [1] | PAGNUSSAT, Luciana Anabella[1] | BORRAJO, María Paula[1] | PÉREZ, Jonás[2] | FRANCOIS, Nora[2] | CREUS, Cecilia[3]

CONICET / FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS (UNMDP) [1]; FACULTAD DE INGENIERIA. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]; FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS (UNMDP) [3]

Introducción y Objetivos: La utilización de microorganismos benéficos como biofertilizantes, constituye una tecnología cada vez más aceptada en la práctica de los cultivos. Sin embargo, las aplicaciones de inoculantes líquidos tradicionales presentan algunas problemáticas como la pérdida de viabilidad, la dosificación sobre las semillas y la pobre protección de las bacterias frente al estrés ambiental. Este trabajo presenta como alternativa de uso, la inmovilización de células vivas en materiales de liberación controlada. El objetivo fue inmovilizar en macroesferas de quitosano-almidón de grado industrial, cepas de *Azospirillum brasilense* Az39 y *Pseudomonas fluorescens* ZME4 en forma individual y/o mixta, y estudiar la viabilidad, interacción y disposición bacteriana en las macroesferas, así como su capacidad para colonizar raíces de maíz.

Materiales y Métodos: Para la carga de las macroesferas se utilizó Az39 transformada con el plásmido pME7134 que expresa la proteína roja fluorescente (dsRED) bajo el promotor constitutivo plac y se transformó ZME4 con el plásmido pMP4566 que expresa la proteína verde fluorescente (GFP) bajo el promotor constitutivo pA1. Ambas cepas fueron crecidas en medio Luria-Bertrani (LB) hasta DO_{600}=2 para Az39, ($5x10^8$ $UFC.mL^{-1}$) y DO_{600}=1 para ZME4 ($10^9 UFC.mL^{-1}$) y se estudió la combinación de diferentes títulos iniciales de carga simple y/o mixta. Para determinar formación de biofilms en las macroesferas, se analizó la disposición bacteriana en las mismas mediante microscopia confocal. Se obtuvieron mutantes naturales resistentes a rifampicina y se seleccionó un clon con resistencia estable para cada una de las cepas, con los que se realizaron ensayos de colonización de raíces de maíz. Semillas de maíz (Dk7220VT3P) fueron inoculadas mediante formulaciones líquidas o con aplicación de macroesferas. Cada 7 días luego de la emergencia se evaluó la colonización de raíces por recuento bacteriano utilizando la técnica de la microgota.

Resultados: Se demostró que ambas bacterias coexisten formando biofilms en las macroesferas tanto en su superficie como en el interior. El título óptimo en la macroesfera se obtuvo con la combinación (10^8 ZME4 con AZ39 10^10). Asimismo, la viabilidad de AZ39 comenzó a disminuir cuando ZME4 igualó su título de carga. Se observó que ambas cepas fueron capaces de colonizar raíces de maíz, disponiéndose en la región de elongación radical, pero no se observó contacto directo entre las especies bacterianas. ZME4 colonizó mejor ante la presencia de AZ39 y su título persistió luego de 21 días desde la siembra en las raíces con aplicación de macroesferas.

Conclusiones: Estos resultados iniciales, indican que los materiales de liberación controlada pueden mantener viables diferentes microorganismos protegiéndolos del estrés ambiental mientras la semilla germina y se produce la colonización de la raíz, lo cual genera perspectivas positivas para llevar un producto útil y efectivo a campo.

JU 094

0408 - INCIDENCIA DEL GÉNERO *ALTERNARIA* EN LA MICOBIOTA DE TOMATES CULTIVADOS EN ARGENTINA

MALDONADO HARO, María Luisa [1] | RUIZ, Matías[1] | MANGIONE, José Luis[2] | FERNÁNDEZ PINTO, Virginia[1] | PATRIARCA, Andrea[1]

INSTITUTO DE MICOLOGIA Y BOTANICA-INMIBO, LAB.DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS-DQO-FCEN-UBA [1]; LABORATORIO DE SANIDAD VEGETAL. MERCADO CENTRAL DE BUENOS AIRES. ARGENTINA [2]

Introducción y Objetivos: El tomate es uno de los cultivos hortícolas más importantes de Argentina. La producción se encuentra distribuida a lo largo de todo el país. Las provincias de Mendoza, San Juan, Santiago del Estero, Catamarca y Río Negro se dedican principalmente a la producción de tomate perita (TP) para uso industrial y el tomate redondo (TR) para consumo fresco se produce en Buenos Aires, Salta, Jujuy, Tucumán, Corrientes, Santa Fe y otras provincias. El 90% de la producción de tomate se destina al procesamiento industrial para la elaboración de las denominadas pastas (extractos, puré y salsas) mientras que sólo el 10% es preparado como tomate pelado, entero o en trozos. El fruto es altamente susceptible a la contaminación con especies de *Alternaria* en el campo y durante el almacenamiento, y estas pueden acumular distintas micotoxinas en el mismo. En la etapa de procesamiento, los tomates contaminados pueden pasar accidentalmente la etapa de selección y entrar en la cadena de producción de alimentos. Cuando esto sucede, los hongos suelen ser destruidos durante el tratamiento térmico, pero no así las micotoxinas. El objetivo del presente trabajo es determinar la incidencia del género *Alternaria*en la micobiota de tomates obtenidos de distintos orígenes y variedades.

Materiales y Métodos: Se analizaron 176 tomates (136 TP y 48 TR) cultivados en las provincias de Salta (61), Mendoza (50), Jujuy (19), La Plata (40), y Corrientes [6]. Se tomó una porción de tejido vegetal de los frutos que presentaron síntomas de daño fúngico externo y se incubó en Agar Diclorán Cloranfenicol Extracto de Malta (DCMA) por 5 días a 25°C. Las colonias obtenidas se transfirieron a Agar Papa Zanahoria (APZ) y se incubaron por 7 días a 25°C para su identificación a nivel de género. Los aislamientos característicos de *Alternaria* se transfirieron a APZ y se identificaron a nivel de especie según Simmons (2007).

Resultados: Se obtuvieron 120 aislamientos del género *Alternaria* siendo este el predominante, de los cuales 94 fueron aislados de tomate perita (36 Salta, 29 Mendoza, 24 La Plata y 5 Jujuy), y 21 de tomates redondos (6 La Plata, 6 Jujuy, 5 Mendoza, 2 Salta y 2 Corrientes). Además se obtuvieron 58 aislamientos del género *Geotrichum* (33 TP y 25 TR), 40 de *Fusarium* (38 TP y 2 TR) , 30 de *Mucor* (22 TP y 8 TR) , 20

de *Cladosporium* (19 TP y 1 TR), 13 de *Trichoderma* (5 TP y 8 TR), 11 de *Penicillium* (10 TP y 1 TR) y 10 de *Rhyzopus* (7 TP y 3 TR).

Conclusiones: Teniendo en cuenta que *Alternaria* es un género productor de micotoxinas, su alta incidencia representa un riesgo para los consumidores asociado a los productos procesados de tomate y puede causar grandes pérdidas económicas en la comercialización de los frutos frescos.

JU 095

0409 - INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES SOBRE EL PERFIL DE TRICOTECENOS PRODUCIDO POR CEPAS DE *FUSARIUM GRAMINEARUM* CON DISTINTOS QUIMIOTIPOS

RAMIREZ ALBUQUERQUE, Lady Diana | PATRIARCA, Andrea | FERNÁNDEZ PINTO, Virginia

INSTITUTO DE MICOLOGIA Y BOTANICA-INMIBO, LAB.DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS-DQO-FCEN-UBA

Introducción y Objetivos: La Fusariosis de la Espiga de Trigo (FET) es una enfermedad endémica del trigo causada principalmente por *Fusarium graminearum*. Esta enfermedad destructiva está fuertemente influenciada por parámetros ambientales causando una reducción en la calidad del grano y la acumulación de niveles significativos de micotoxinas en los granos, principalmente tricotecenos como deoxinivalenol (DON), 3-acetildeoxinivalenol (3-ADON), 15-acetildeoxinivalenol (15-ADON) y nivalenol (NIV). Se han descripto tres quimiotipos diferentes en *F. graminearum* correspondientes a la producción de diferentes perfiles de tricoteceno: quimotipo 15-ADON, cuando se producen DON y 15-ADON, quimiotipo 3-ADON, cuando se producen DON y 3-ADON y quimiotipo NIV. El quimiotipo 15-ADON es predominante en Argentina, aunque también se han encontrado aislamientos pertenecientes al quimiotipo 3-ADON y otros que producen cantidades semejantes de ambos acetilderivados. Análisis moleculares y de producción de micotoxinas demostraron que el quimiotipo 3-ADON está desplazando rápidamente el quimiotipo 15-ADON en poblaciones de *F. graminearum* del oeste de Canadá. Estudios efectuados en invernadero demostraron que aislamientos pertenecientes al quimiotipo 3-ADON producían concentraciones de DON superiores a los aislamientos pertenecientes al quimiotipo 15-ADON, lo cual es motivo de preocupación para los productores de granos y las industrias relacionadas. Sería importante, determinar cómo influyen los factores climáticos en la preponderancia de uno u otro quimiotipo. El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de la temperatura sobre la biosíntesis de estas micotoxinas utilizando cuatro cepas de *F. graminearum*, productoras de DON, 3-ADON y 15-ADON; DON y 3-ADON; DON y 15-ADON.

Materiales y Métodos: Los ensayos se realizaron sembrando las cepas en un medio agarizado con 2% de trigo. Cada cepa se incubó a diferentes temperaturas (5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 ° C) durante 7, 14, 21, 28 y 35 días. Las toxinas se extrajeron con una mezcla de acetonitrilo/acetato de etilo/agua (50:41:9, v/v) realizándose el clean-up en una columna con 0,7 g de carbón activado, 0,5 g de alúmina neutra y 0,3 g de celite. La detección de tricotecenos se realizó por CG con detector de captura de electrones (ECD), previa derivatización con anhídrido trifluoroacético.

Resultados: Las condiciones óptimas de temperatura para la producción de DON y 3-ADON se encontraron entre 25 y 30 °C, siendo 3-ADON la toxina que se acumuló en mayor cantidad. La máxima cantidad de 15-ADON se produjo a una temperatura mucho menor (10 ºC). Las mínimas producciones de 3-ADON se registran entre 5 y 10 °C y las de 15-ADON entre 30 y 35 °C. Todos los resultados fueron similares para todas las cepas. Se observo una marcada influencia de la temperatura en la acumulación relativa de los acetilderivados.

Conclusiones: Ya que la distribución geográfica de las especies y los quimiotipos están influenciados fuertemente por los factores climáticos; el calentamiento global podría tener un gran impacto en esta distribución. Determinar como influye la temperatura en la acumulacion de uno u otro quimiotipo es esencial para poder diseñar estrategias adecuadas de control de la enfermedad.

JU 096

0451 - NODULACIÓN DE SOJA EN ALTAS CONCENTRACIONES DE KNO_3 AL COINOCULARLA CON *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* Y *TRICHODERMA HARZIANUM*

ITURRALDE, Esteban Tomás | COLLA, Delfina | COTABARREN, Aixa | HEGEL, Valeria Alejandra | LAMELZA, Florencia | LODEIRO, Anibal | PÉREZ GIMÉNEZ, Julieta

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: Actualmente, el mercado de los biofertilizantes ha puesto gran parte de su esfuerzo en el desarrollo de productos compuesto por más de una cepa microbiana. Hemos demostrado que en plantas de soja el proceso de nodulación no se ve afectado frente a la coinoculación con *Bradyrhizobium*

japonicum E109 y *Trichoderma harzianum* Th5cc. Además, en presencia del hongo Th5cc, *B. japonicum* E109 es capaz de nodular en presencia de concentraciones de KNO_3 en la cuales sólo, no puede hacerlo. *T. harzianum* Th5cc es un hongo del suelo con efectos inhibidores sobre muchos de los fitopatógenos de soja. A su vez, los hongos pertenecientes a este género son capaces de sintetizar y secretar al medio de cultivo gran cantidad de metabolitos secundarios, entre los que se destacan las hormonas. El Ácido Indol-3-Acético (AIA) es una auxina que regula y estimula el proceso de desarrollo vegetal. Consecuentemente nos planteamos evaluar la producción de AIA en Th5cc y estudiar si este metabolito es determinante en la regulación de la nodulación en presencia de KNO_3 cuando la soja es coinoculada con ambas cepas.

Materiales y Métodos: Se realizaron ensayos de coinoculación de plantas de soja con *B. japonicum* E109 (10^6 UFC/mL) y *T. harzianum* Th5cc (10^7 UFC/mL) o la misma dilución del rizobio suplementado con 11 µM de AIA. Las plantas se regaron con solución mineral Fåhraeus suplementada con distintas concentraciones de KNO_3 y se cosecharon 21 días post inoculación.

Resultados: *T. harzianum* Th5cc es capaz de producir 11 µM de AIA, cuantificada por el método de Gordon Weber utilizando como patrón AIA sintético. En las plantas de soja inoculadas con *B. japonicum* E109 y regadas con solución mineral con 10 mM de KNO_3, no se observa la formación de nódulos. Sin embargo, cuando se realiza la coinoculación con *B. japonicum* E109 y *T. harzianum* Th5cc en la misma concentración de KNO_3, hay presencia de nódulos. Estos son funcionales ya que al cortarlos presentan una coloración rojiza y tienen ultraestructura de nódulo fijador al ser observados mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (MET). Para determinar si era el efecto del AIA lo que permitía que se desarrollara la nodulación en presencia de altas concentraciones de nitratos, inoculamos plantas de soja con *B. japonicum* E109 y añadimos AIA exógena en la concentración que produce el hongo. Las mismas se regaron con una concentración 10 mM de KNO_3. Después de 21 días, las plantas se cosecharon y en las raíces se hallaron nódulos con la misma apariencia de los de las plantas coinoculadas con *T. harzianum* Th5cc. Al ser observados por MET, tenían estructura de nódulo fijador.

Conclusiones: La producción AIA de *T. harzianum* Th5cc podría ser la responsable de la nodulación de soja en presencia de 10 mM de KNO_3. De esta manera la coinoculación con *T. harzianum* Th5cc además de un efecto bioncontrolador, contribuiría a la preservación del contenido de nitrógeno en el suelo.

JU 097

0598 - EFECTO DEL SEGUNDO MENSAJERO GUANOSINA PENTA/TETRAFOSFATO ((P)PPGPP) SOBRE LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS EN BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS

COLLA, Delfina | COTABARREN, Aixa | ITURRALDE, Esteban Tomás | PÉREZ GIMÉNEZ, Julieta

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: Cuando al rizobio simbionte de soja B. diazoefficiens se lo cultiva con escasez de N, se estimula la velocidad de producción y el número de nódulos en las raíces de esta planta. Las bacterias así cultivadas también resultan más competitivas para nodular respecto a aquellas cultivadas en suficiencia de N. En esta condición de escasez de N se dispararía la respuesta severa (RS), sugiriendo que las mejoras en los parámetros simbióticos evaluados se deben a la expresión de distintos genes dependientes del segundo mensajero (p)ppGpp. Esta hipótesis se apoya en que la mutante en el gen rsh, cuyo producto regula la síntesis del (p)ppGpp, B. diazoefficiens LP5065, nodula pero fija menos N_2. Consiguientemente, nos planteamos estudiar la RS en B. diazoefficiens con el fin de correlacionar los resultados que se obtengan con la capacidad simbiótica de estos rizobios. Así decidimos evaluar la expresión diferencial de proteínas frente a la presencia/ausencia de (p)ppGpp mediante proteómica.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron proteínas enriquecidas en las fracciones de membrana y citoplasmáticas de las cepas B. diazoefficiens USDA 110, cepa salvaje, y LP5065; en dos condiciones: Tratada (T) con solución mineral libre de C y N (en la que se dispararía la RS en la cepa salvaje), y No tratada (NT). Las proteínas se analizaron por nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masa con tecnología Orbitrap. Los espectros obtenidos fueron analizados con el programa Proteome Discoverer y los datos obtenidos fueron procesados con el programa Perseus con un análisis estadístico de t de Student con un p-valor ≤ 0,05.

Resultados: En la cepa salvaje identificamos, teniendo en cuenta los resultados de ambas fracciones, 2562 y 2689 proteínas para la condición T y NT, respectivamente. El análisis comparativo entre la condición T y la NT muestra 8 proteínas sobreexpresadas y 10 con menos nivel de expresión. Respecto a la cepa mutante se hallaron 2541 en la condición T y 2531 en la NT, con 7 proteínas sobreexpresadas y 8 proteínas disminuidas en su expresión entre T y NT. Dentro de las proteínas que se detectaron en una condición y no en la otra, identificamos un 1,2% de las proteínas totales en la condición T y un 2,9% en la condición NT para la cepa USDA 110. Para la cepa LP5065 se encontró un 1,7% de las proteínas totales en la condición T y un 2,1% de las proteínas totales en la condición NT.

Conclusiones: El número de proteínas identificadas es acorde a la resolución de la metodología elegida. A su vez el porcentaje de proteínas que se expresan diferencialmente entre la condición T y NT mostrarían una diferencia en el estado metabólico de ambas cepas sometidas al tratamiento. Del análisis de las proteínas

diferenciales entre ambas cepas y condiciones esperamos obtener un esquema de las proteínas que se encuentran regulados en este sistema por (p)ppGpp, y así poder construir un modelo del funcionamiento de la respuesta severa en B. diazoefficiens, y su relación con la simbiosis en soja.

JU 098

0507 - APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS ÓMICAS PARA LA BÚSQUEDA DE GENES ASOCIADOS AL BIOCONTROL DE PATÓGENOS EN UNA CEPA DE *BACILLUS ALTITUDINIS* AISLADA DE *ILEX PARAGUARIENSIS* ST. HIL

CORTESE, Iliana Julieta[1] | BICH, Gustavo Angel[2] | **CASTRILLO, Maria Lorena** [3] | ZAPATA, Pedro Darío[4] | LACZESKI, Margarita Ester[5]

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR - INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA" [1,2,3,4] INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA" - CAT. BACTERIOLOGÍA FCEQYN [5]

Introducción y Objetivos: Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) son un grupo de bacterias que colonizan las raíces y otros tejidos de las plantas, proporcionando efectos benéficos sobre el crecimiento y desarrollo de las mismas. El efecto directo de las PGPR es favorecer la biodisponibilidad de nutrientes para las plantas. Además, algunas cepas como las del género *Bacillus* son capaces de producir compuestos microbianos y metabolitos secundarios vinculados al control de patógenos, lo cual potenciaría su uso como bioinsumo. El conocimiento de los genes vinculados al control biológico en bacterias es aún escaso. Las tecnologías ómicas dirigidas a la detección universal de genes (genómica), presentan herramientas informáticas útiles para la detección y el estudio de genes asociados a las propiedades de biocontrol. De acuerdo a lo expuesto, el presente trabajo tuvo como objetivo buscar y reportar genes asociados al control biológico en una cepa de B. altitudinis aislada de yerba mate *Ilex paraguariensis* St. Hil. en Misiones, seleccionada por sus propiedades como PGPR.

Materiales y Métodos: Para ello se recuperó la cepa bacteriana *B. altitudinis* 19R conservada en el cepario del Instituto de Biotecnología Misiones perteneciente a la Universidad Nacional de Misiones. A partir de un cultivo de 24 h en caldo nutritivo se extrajo ADN genómico. El ADN de alta calidad fue enviado a Macrogen-Corea para la generación de una biblioteca *Rapid shotgun* para gADN y la generación de una secuenciación *whole genome de novo*mediante la tecnología Illumina Inc. Para la detección de genes de biocontrol se utilizaron como referencia las secuencias obtenidas del genoma anotado de *B. altitudinis* cepa SGAir0031 (CP022319). La búsqueda y análisis de los genes se realizó con el *software* Geneious (11.0.1). Las secuencias obtenidas se compararon con la bases de datos de secuencias de nucleótidos y proteínas del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), utilizando las plataformas BLASTn y BLASTx respectivamente.

Resultados: A partir de este procedimiento se obtuvieron las secuencias nucleotídicas para los siguientes genes con los respectivos números de acceso: *bacA* (MK934835), *tua* (MK934838), *bioB* (MK934834), *acnA* (MK934833), *bsaA* (MK934836), *yngG* (MK934839), *yoxA* (MK934840) y *nirK* (MK934837). Al contrastar la información obtenida con la existente en las bases de datos se obtuvieron valores mayores al 98% de identidad con regiones genómicas de cepas reportadas de *B. altitudinis*.

Conclusiones: Los resultados obtenidos en el presente trabajo remarcan la importancia del estudio genómico de microorganismos con capacidades PGPR para su implementación como alternativa sustentable al mejoramiento del rendimiento y biocontrol de patógenos de los cultivos.

JU 099

0516 - *STREPTOMYCES SP.* COMO AGENTE DE BIOCONTROL FRENTE A INFECCIONES DE HONGOS FITOPATÓGENOS DE SOJA

BERCOVICH, Bárbara [1] | VILLAFAÑE, David Lionel[1] | CHIESA, María Amalia[2] | LARIO, Luciana[3] | GRAMAJO, Hugo[1] | RODRIGUEZ, Eduardo[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR) [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS AGRARIAS DE ROSARIO (IICAR-CONICET, FCAGR, UNR) [2]; Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos de Rosario (CEFOBI-CONICET, FBIOYF, UNR) [3]

Introducción y Objetivos: Para satisfacer la demanda de alimentos, en los próximos 30 años la producción agrícola debe crecer un 60%. Sin embargo el estrés biótico causado por distintos organismos fitopatógenos es causa de importantes pérdidas. Por ejemplo, para el cultivo de soja, se calcula que las pérdidas anuales atribuibles a enfermedades oscilan el 11% a nivel mundial. Por lo tanto, es imprescindible diseñar e implementar estrategias de control de estos patógenos. Actualmente se utilizan fungicidas (cura semillas), cuyo uso está cada vez más restringido por sus efectos nocivos para la salud humana y el medioambiente. Una

alternativa sustentable es el agregado de microorganismos del suelo como agentes de control biológico. Las actinobacterias, principalmente *Streptomyces sp.*, son bacterias del suelo productoras de más de la mitad de los productos naturales de uso terapéutico incluyendo importantes antifúngicos. Sin embargo, hasta el presente existen pocos biocontroladores formulados en base a actinobacterias. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es desarrollar bioinoculantes a partir de cepas de *Streptomyces* que permita la protección del cultivo de soja frente a distintos hongos patógenos.

Resultados: Como primer paso, se seleccionaron cepas de *Streptomyces* productoras de antifúngicos polienos y se corroboró su actividad antifúngica en placa frente a hongos fitopatógenos de soja como *F. tucumaniae*, *M. phaseolina* y *D. phaseolorum*. Posteriormente, se examinó la interacción entre las actinobacterias y *Bradyrhizobium japonicum* (bioinoculante), y se la contrastó frente al efecto de los antifúngicos sintéticos sobre esta última. Esto se llevó a cabo a través de antibiogramas en placa y recuento de *B. japonicum* viables obtenidas de semillas co-inoculadas con *Streptomyces* o antifúngicos, y se verificó un efecto menor sobre *Bradyrhizobium* en el primer caso. Luego, se ensayó el impacto de las actinobacterias sobre la planta de soja, inoculando las semillas con éstas y analizando parámetros de crecimiento. Se observó que *Streptomyces* no sólo no afecta el crecimiento de la planta sino que en algunos casos lo mejora significativamente. Por último, se analizó la capacidad de estas cepas para controlar los síntomas de Síndrome de la Muerte Súbita (SMS), Podredumbre Carbonosa (PC) de raíz y Cancro de Tallo (CTS) en sistemas de infección controlada en invernaderos. En este caso, además de los parámetros antes mencionados, se examinaron los niveles de incidencia y severidad en hojas, tallos y raíces. Se observó un biocontrol efectivo de estas infecciones, con una disminución significativa de los síntomas comparado con plantas control sin tratar y con aquellas tratadas con los antifúngicos sintéticos.

Conclusiones: De esta manera, podemos concluir que el género *Streptomyces* es idóneo para proteger a las plantas de soja contra hongos fitopatógenos sin afectar su crecimiento, ni al bioinoculante, convirtiéndose en una herramienta potencial, de bajo impacto ambiental, para la protección del cultivo.

JU 100

0559 - CARACTERIZACIÓN DE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* A506 Y SU INTERACCIÓN CON *ARABIDOPSIS THALIANA*

LABARTHE, María Mercedes [1] | MARONICHE, Guillermo[2] | LAMATTINA, Lorenzo[3] | CREUS, Cecilia[1]

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS (UNMDP) [1]; CONICET / FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS (UNMDP) [2]; CONICET / INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS [3]

Introducción y Objetivos: *Pseudomonas fluorescens* pertenece al grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, que además de favorecer el crecimiento y desarrollo de la planta, producen antibióticos tóxicos para patógenos y/o inducen la respuesta sistémica en la planta. Particularmente la cepa A506, aislada del mesófilo de la hoja de pera, se la conoce por su capacidad biocontroladora de fitopatógenos y por proteger variedad de cultivos de los efectos de la helada y exceso de metales pesados en el suelo. El objetivo de este trabajo fue caracterizar bioquímica y fisiológicamente la cepa y estudiar la capacidad de colonización de raíces de *A. thaliana*.

Materiales y Métodos: Para la caracterización, se probó la producción de sideróforos por el método O-CAS, la solubilización de fosfatos en medio PKV y la movilidad de tipo swimming y swarming en medios blandos. Se analizó el crecimiento en medios con diferentes fuentes de N. Se evaluó la capacidad de formar biofilms en medios NB y NfB + NH_4ˆ+ con diferentes concentraciones de Feˆ+3 y en exudados radicales de *A. thaliana*, revelando el biofilm con cristal violeta o por flourescencia (A506:GFP). Para estudiar la colonización bacteriana de raíces se inoculó con A506:GFP o A506:DsRED y se tomaron fotos en transiluminador azul, en luz blanca y en lupa (7x).

Resultados: Los resultados muestran que la cepa produce sidereóforos y no es capaz de solubilizar fósforo. Respecto a su movilidad se observa en ambos medios una gran capacidad de swimming y swarming. Las curvas de crecimiento revelan que la cepa alcanza la fase estacionaria a una DO_{600} mayor en medios con ácido málico que con glucosa, y que el aumento de la concentración de nitrógeno conlleva a un aumento final de DO_{600}. En cuanto a la capacidad de formar biofilm, en el medio rico NB formó más biofilm que en NfB+ NH4ˆ+, mientras que el aumento de la concentración de Feˆ+3 disminuyó la formación de biofilm. Por otro lado, en exudados radicales, la bacteria formó menos biofilm manteniéndose planctónica Las plantas inoculadas con A506:DsRED mostraron colonización por la bacteria en la zona de crecimiento de la raíz, formando una especie de conos distribuidos equidistantes.

Conclusiones: En conclusión, los fenotipos descriptos de la cepa A506 muestran que podría tener ventajas competitivas en la rizósfera, que estimulan a seguir con investigaciones para incluirla en programas de uso como inoculante de cultivos.

JU 101

0573 - EVALUACION DE BACTERIAS NATIVAS Y SUS METABOLITOS PARA EL CONTROL DEL NEMATODO DE LAS AGALLAS

BORRAJO, María Paula[1] | **MARONICHE, Guillermo** [1] | MONDINO, Eduardo[2] | DÍAZ, Pablo Rafael[3] | CREUS, Cecilia[3]

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS-CONICET, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA [1]; EEA BALCARCE, INTA [2]; FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA [3]

Introducción y Objetivos: Bacterias benéficas del suelo pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*, han sido reportadas como biocontroladoras de fitonematodos. Por ello, nos propusimos evaluar mediante ensayos *in vitro* el efecto de distintas cepas nativas, y sus metabolitos libres de células (MLC), sobre la eclosión de huevos y la mortalidad de larvas J2 de *Meloidogyne javanica* (MJ).

Materiales y Métodos: Las bacterias estudiadas fueron *Bacillus sp.* B7S, *Bacillus sp.*, B9T, *Bacillus sp.* B19S, *Pseudomonas fluorescens* MME3, *P. fluorescens*TAE4, *P. fluorescens* TAR5 y *P. fluorescens* ZME4. En todos los casos se contó con un control positivo constituido por *P. protegens* CHA0, y con un control negativo de agua estéril. Cuando se evaluó el efecto de los MLC también se sumó el control del medio de cultivo. Las bacterias se crecieron en LB con agitación a 30°C hasta fase estacionaria tardía. Las suspensiones bacterianas se ajustaron a 10^8 UFC.mL^-1 para *Bacillus* y a 10^9 UFC.mL^-1 para *Pseudomonas*. Los MLC se obtuvieron luego de centrifugar las suspensiones (12000 rpm 4°C), y filtrar en esterilidad con Minisart Syringe Filter 0,2 µm. Los huevos de MJ se obtuvieron de la extracción (hipoclorito de sodio 0,5%, 4 min) de raíces de tomate infectadas. Cuando se requirió la utilización de larvas J2, los huevos se dejaron eclosionar a 28°C en agua destilada. Los ensayos se realizaron por duplicado en multiplacas de 24 celdas, contando con cuatro replicas por tratamiento en cada evaluación. En cada celda se colocó 600 µl de suspensión bacteriana ó MLC y 300 µl de inoculo MJ conteniendo 100 huevos ó larvas J2, según corresponda. Las placas se incubaron en cámara húmeda a 28°C durante 3, 6 y 9 días para evaluar la eclosión, y durante 2 días para evaluar el efecto sobre la mortalidad de larvas.

Resultados: Los resultados se analizaron según un DCA mediante ANOVA con un nivel de significancia del 5%. El porcentaje de eclosión se vio afectado tanto por la presencia de bacterias como por la exposición a los MLC. En cada momento de evaluación, los valores de eclosión más bajos se lograron al exponer los huevos a suspensiones de B9T, MME3, B19S y TAR5 (Día 3: 14-21%, Día6: 32-43%, Día 9: 43-49%). A excepción de B9T, los MLC inhibieron la eclosión entre un 43 y 86 % respecto a los controles (CT y LB), siendo las diferencias menores hacia el día 9 de incubación. En general los tratamientos con suspensiones de *Bacillus* (B7T y B19S) presentaron mayor mortalidad respecto a los de *Pseudomonas*, siendo en todos los casos significativamente superiores al control (>40%). Comportamientos similares se observaron cuando las larvas fueron expuestas a los MLC.

Conclusiones: A partir de los resultados se concluye que tanto las suspensiones B19S, B7T, MME3 y TAR5 como sus MLC presentan los mejores perfiles para ser aplicados como biocontroladores de MJ, resultando necesario continuar con estudios en planta.

JU 102

0692 - SELECCIÓN DE VARIANTES HIPERPRODUCTORAS DE PROTEÍNAS INSECTICIDAS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* INTA MO4-4 DESTINADAS AL CONTROL DE *ALPHITOBIUS DIAPERINUS*

PEREZ, Melisa | ONCO, María Inés | BENINTENDE, Graciela | SAUKA, Diego

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA). INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA Y ZOOLOGÍA AGRÍCOLA

Introducción y Objetivos: *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: *Tenebriondae*) afecta instalaciones avícolas basándose su control principalmente en el uso de productos químicos. Una estrategia ambientalmente más segura podría incluir el uso de bioinsecticidas que contengan a *Bacillus thuringiensis* como ingrediente activo. Recientemente, la cepa nativa INTA Mo4-4 fue seleccionada por la alta virulencia de sus cristales como candidata para elaborar un bioinsecticida destinado al manejo de A. diaperinus. A nivel industrial y a efectos de reducir costos de producción, es necesario maximizar la obtención de biomasa activa (espora y cristales proteicos). El objetivo de este trabajo fue seleccionar variantes que produzcan concentraciones de proteínas insecticidas mayores que la cepa silvestre mediante mutagénesis inducida al azar.

Materiales y Métodos: En una primera etapa se determinó la concentración de dos agentes mutagénicos químicos que permitieran obtener menos del 2% de sobrevivientes. Para ello, células vegetativas y esporas (ca. $1x10^8$ UFC/ml) se expusieron por 16 h a diferentes concentraciones de naranja de acridina (NA) (25 a 100 µg/ml) y etil metano sulfonato (EMS) (3 a 6 µg/ml) respectivamente. A continuación, se realizó el ensayo de mutagénesis propiamente dicho utilizando 100 y 6 µg/ml de NA y EMS respectivamente. Las mutantes

obtenidas se cultivaron en agar LB y las distintas colonias aisladas fueron repicadas a caldo de esporulación. Luego las proteínas totales solubilizadas fueron cuantificadas mediante el método de Bradford.

Resultados: Se analizaron entre 100 y 200 colonias por tratamiento. Se seleccionó una colonia (33) expuesta a NA y tres (28, 30 y 113) a EMS, que presentaron un porcentaje de producción de proteínas totales mayor al 20% que la cepa silvestre. Estas colonias se cultivaron sucesivamente en 1, 50 y 400 ml de caldo de esporulación y se cuantificaron las proteínas totales. La hiperproducción se mantuvo estable en todos los casos, excepto para la colonia 33, hasta un volumen de 50 ml. Una alícuota del cultivo de las colonias 28, 30 y 113 obtenidas en este volumen se evaluaron toxicológicamente frente a larvas de A. diaperinus produciendo mortalidades entre 20 y 70% más que la cepa silvestre (46,6 ± 3,3%). Finalmente, a una parte de la biomasa de estas colonias obtenida del cultivo de 400 ml se le cuantificó proteínas totales obteniendo entre un 48 y 91 % de mejoramiento con respecto a la cepa silvestre (333 ± 20 µg/ml). Estos valores tuvieron cierta correlación con las concentraciones de Cry3 obtenidas mediante densitometría de las bandas obtenidas en geles de SDS-Page, confirmando la hiperproducción de la misma.

Conclusiones: En conclusión, las mutantes seleccionadas expuestas a EMS resultaron ser hiperproductoras estables de proteínas insecticidas, traduciéndose en un aumento de la actividad tóxica. De este modo, se podría mejorar el rendimiento de la producción de biomasa activa de INTA Mo4-4 para el desarrollo de un futuro bioinsecticida.

JU 103

0622 - EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL DE LAS PLANTAS DE TOMATE EN INTERACCIÓN CON *CLADORRHINUM SAMALA*

MARTIN, Mara[1] | SAPARRAT, Mario[1] | GASONI, Laura[2] | **BARRERA, Viviana** [2]

CONICET [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [2]

Introducción y Objetivos: Es indispensable la búsqueda de microorganismos utilizados como biofertilizantes para reducir el uso de agroquímicos. Los hongos promotores del crecimiento vegetal conocidos como PGPF ("Plant Growth-Promoting Fungi") son organismos no patogénicos benéficos en plantas. El género *Cladorrhinum* (Sordariales, Ascomycota) incluye numerosas especies asociadas al suelo, se han estudiado cepas de *C. samala* con comportamiento endófito en algodón. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de la cepa nativa *C. samala* INTA-AR 1 como PGPF en interacción con plantas de tomate.

Materiales y Métodos: Para observar interacción a corto plazo se realizaron microcultivos con AA al 1,2 %. Se colocó en un extremo del portaobjetos una plántula de tomate cultivada in vitro en placa por 10 días a 25 °C, con fotoperiodo de 16 h y en el otro extremo se sembró la cepa *C. samala* INTA-AR 1, se incubó durante 72 h a 25 °C. La raíz colonizada se tiñó con azul de anilina al 1 % y se observó en microscopio óptico. Para observar interacción a largo plazo se realizaron cultivos in vitro en vasos de plástico, donde cada recipiente fue inoculado con un disco de agar con la cepa y se incubaron a 25 ºC con fotoperiodo de 16 h. Se realizaron las tinciones de las raíces y observaciones en microscopio óptico y de fluorescencia. Para evaluar los niveles de clorofila se confeccionó el inóculo de la cepa INTA-AR 1 en arroz en diferentes concentraciones (0,5, 1 y 2 %) y se mezcló con 600 g de sustrato sólido. Paralelamente se realizaron cultivos in vitro de semillas de tomate, luego de 7 días, se trasplantaron 10 plántulas por bandeja con las diferentes concentraciones de Cladorrhinum, se colocaron en condiciones controladas de 25 °C y fotoperiodo de 16 h durante 60 días. De la misma forma se trasplantaron 10 plántulas a una bandeja control la cual contenía el sustrato sin el hongo. La medición de la cantidad de clorofila se realizó en todas las plantas tomando 3 hojas vegetativas de los entrenudos apicales con un equipo SPAD 502 Plus. Se realizó el análisis estadístico ANOVA (Test de Tukey).

Resultados: En las observaciones microscópicas de la interacción tomate- *C. samala*, se identificaron 2 patrones de interacción: Enrollamiento superficial de las hifas alrededor de las raíces en estadios más tempranos y colonización de las hifas en forma inter- e intra-celular de los tejidos de la raíz en estadios posteriores. Los valores de media en unidades SPAD en el tratamiento con 2 % de inóculo *C. samala* INTA-AR 1 fue de 24,26 ± 0,94, el tratamiento al 1 % fue de 21,5 ± 0,89, el tratamiento al 0,5 % fue de 17,57 ± 0,85 y el control no-inoculado fue de 15,09 ± 0,94. El tratamiento de 2 % presentó el mayor valor de unidades SPAD con diferencias significativas.

Conclusiones: La cepa nativa *C. samala* INTA-AR 1 mostró una interacción del tipo endofítico con las raíces de las plantas de tomate y aumentó los niveles de clorofila foliar, se propone esta cepa como un nuevo PGPF.

JU 104

0628 - EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE UN FORMULADO EN BASE A *BACILLUS THURINGIENSIS* (BERLINER, 1915) EN DISTINTAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

CARRIZO, Alfonso Emanuel [1] | CARRIZO, Carla Belén[2] | CORREGIDOR, Paula Alejandra[3] | PERA, Licia[4] | BAIGORÍ, Mario Domingo[4]

CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA GENERAL - FCA - UNJU Y CONICET [1]; CATEDRA DE BIOLOGÍA MOLECULAR - FCA - UNJU E INTA - IPAF - NOA [2]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA GENERAL - FCA - UNJU [3]; PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET [4]

Introducción y Objetivos: Se denomina formulado microbiano a todo producto compuesto de biomasa de algún agente de control biológico e ingredientes adicionales para mejorar la supervivencia y efectividad hacia plagas agrícolas, forestales y de salud pública. Los formulados en base a *B. thuringiensis* (Bt), tienen como ventajas: ser eco-amigables, seguros para el hombre, ganado, e insectos no objetivo y económicos. Sus propiedades insecticidas son atribuidas principalmente a la síntesis de proteínas Cry y Vip; por lo que una de sus principales desventajas es la baja estabilidad de estas proteínas durante el almacenamiento. Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) (Sf) es una plaga clave del maíz en el noroeste argentino, por lo que resulta importante encontrar alterativas eco-amigables a los pesticidas químicos y maíz Bt para su control. Se planteó evaluar la estabilidad del formulado en base a Bt en distintas condiciones de almacenamiento.

Materiales y Métodos: Se realizó la producción la cepa Bt RT (Genebank: EF638795) a 30°C, 3 L y pH libre, en un fermentador. Se utilizó un medio de cultivo con sustratos económicos. Se evaluó el efecto durante el almacenamiento de 11 factores con dos niveles cada uno, mediante un diseño de Plackett-Burman (significancia = 0,1). Los factores fueron: temperatura, pH, agregado de bagazo de caña de azúcar, melaza, maíz molido, aceite de soja, Tween 80, sulfato de magnesio, carbonato de calcio, glicerol y cloruro de potasio; que según bibliografía influyen en la estabilidad, palatividad o potenciación del efecto insecticida. Las combinaciones se evaluaron al mes 1, 6 y 12 y se utilizó como variable respuesta, la efectividad (%) hacia larvas I de Sf biotipo maíz y la concentración de delta-endotoxina por Bradford. Adicionalmente, se efectuó un ANOVA factorial (significancia = 0,05), para investigar interacciones entre el tiempo y temperatura de almacenamiento. Se probaron 5 temperaturas: -12, 4, 25, 30 y 37°C y 4 tiempos: 2, 6, 11 y 15 meses. Como variable respuesta se utilizó efectividad hacia larvas III de Sf biotipo maíz y concentración de delta-endotoxinas.

Resultados: El análisis de Plackett-Burman, indicó que sólo la temperatura influyó en la concentración de delta-endotoxinas a los 6 meses. El efecto fue negativo, es decir que la concentración de delta-endotoxinas disminuyó cuando se pasó del menor nivel (25°C) al mayor nivel (30°C) de temperatura. Según el ANOVA factorial, la mejor opción de conservación del formulado fue a una temperatura de -12°C durante 15 meses, donde se obtuvo una efectividad del 91,67% hacia Sf. Aunque un almacenamiento a una temperatura de 25°C durante 11 meses, resultó en una efectividad del 82,76%, esta condición puede ser una buena opción en caso de no contar con una refrigeración de -12°C.

Conclusiones: Se notó mayor estabilidad del formulado Bt a 25°C durante 11 meses y -12°C durante 15 meses. Agradecimientos: PICT 2015 2596 (FONCyT) y PIUNT 606 (UNT).

JU 105

0637 - INFLUENCIA DE LOS HONGOS *MICORRIZICOS ARBUSCULARES* (HMA) NATIVOS EN LA MEJORA DE LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA EN COLOMBIA.

CARRILLO, Ana | ORTIZ, Orieta | QUIROZ, Jaime

SENA- CENTRO BIOTECNOLÓGICO DEL CARIBE CBC

Introducción y Objetivos: Las iniciativas para mejorar la productividad del sector agrícola en la etapa de postconflicto en Colombia, se ven afectadas por el aumento de la sequia, Minambiente e IDEAM presentan cifras en las que el 40% de los suelos colombianos están afectados por erosión donde el 2,9% es erosión severa. Todos los suelos de los departamentos presenten degradación pero Cesar, Caldas y Córdoba registran mas del 70% de su área afectada. Nace la iniciativa de crear un fertilizante biológico el cual utiliza hongos micorrízicos nativos para establecer asociaciones mutualistas a manera de simbiosis con las raíces de las plantas. Esta idea representa una alternativa para prescindir de los agentes químicos y de contaminación, reemplazándolos por un bioinsumo que fija los nutrientes presentes en el suelo de forma mas natural, rápida y eficaz, favoreciendo así los cultivos, paralelo a esto el sustrato a base de esporas de micorrizas nativas le brinda a la planta resistencia ante las condiciones climáticas adversas, el impacto de la sequía y el ataque de agentes patógenos.Objetivo general: determinar la influencia de los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) nativos en la mejora de los sistemas de producción agrícola del Centro Biotecnológico del Caribe y cultivos de importancia en el departamento del cesar. Objetivos específicos: 1.Obtener suelo esporado a partir de cultivos y zonas no intervenidas en el Centro Biotecnológico del Caribe y grupo empresarial Oleoflores. 2.Evaluar el desarrollo de los cultivos trampa a partir de la simbiosis entre el suelo micorrizado y las raíces de la planta. 3.Identificar y clasificar la eficiencia de los suelos micorrizados y su interacción con cada uno de los cultivos.

Materiales y Métodos: Se realizó la toma de muestras compuestas de la rizósfera del suelo (20 cm de profundidad) en 4 áreas de interés (cultivo de forrajero, cultivo de hortifruticola, zona de mecanización y bosque nativo) del centro biotecnológico del caribe ubicado en N 10°24´ W 73°14´; 168 msnm. Y el grupo

empresarial Oleoflores N 10°3´ W O73°14´; 131 msnm. Clima tropical. Cuantificación de esporas: se realizó para determinar el número de esporas viables en cada una de las zonas muestreadas, teniendo en cuenta que el mínimo promedio es de 10 esporas/gr suelo. Multiplicación de esporas: sembrando semillas de cultivos trampa; Maíz, sorgo, pasto brachearia en los distintos sustratos esporados obtenidos de las 4 áreas analizadas, evaluando rendimiento y comportamiento. Finalmente se realizara el análisis estadístico de la información recolectada verificando la efectividad del tratamiento.

Resultados: 1. Se logró cuantificar las esporas de micorrizas aisladas de las áreas de bosque nativo, cultivo forrajero, Hortifruticola y Mecanización agrícola del Centro Biotecnólogico del caribe. 2. Se logró cuantificar las esporas de micorrizas de las distintas áreas de interés presentes en la Hacienda las flores. 3. Se realizó una prueba de reproducción de esporas a escala piloto, con diferentes tipos y combinaciones de Sustratos (arena, suelo esporado, suelo estéril) y semillas de cultivos trampa en el centro Biotecnólgico del caribe y la Hacienda las Flores.

Conclusiones: Se evidenció la presencia de hongos formadores de micorrizas (HFM) en cada una de las muestras analizadas, siguiendo el protocolo establecido, arrojando resultados favorables para la muestra del área de cultivos forrajeros, sin embargo, en la prueba piloto de reproducción de esporas se espera determinar y seleccionar la mejor simbiosis entre los cultivos trampa y las esporas de hongos presentes en las distintas área de trabajo analizadas.

JU 106

0642 - CARACTERIZACIÓN DE UNA ACTIVIDAD PROTEASA PRODUCIDA POR *BACILLUS THURINGIENSIS* RT

LOTO, Flavia | STERLING, Florencia | BAIGORÍ, Mario | PERA, Licia

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN.

Introducción y Objetivos: *Bacillus thuringiensis* (Bt) posee la característica de producir proteínas insecticidas denominadas delta endotoxinas, por lo que es utilizada en el control de plagas agrícolas y sanitarias. También produce otros factores de virulencia como ser: exotoxinas, fosfolipasas, quitinasas y proteasas, los cuales actúan sobre diversos órdenes de insectos, entre los que se encuentran, dípteros, coleópteros, y lepidópteros. Particularmente en Bt se han identificado actividades proteolíticas capaces de activar o degradar la proteína Cry, disminuyendo o aumentando su actividad insecticida. También mostraron ser capaces de destruir tejidos internos de *Spodoptera frugiperda* (Sf). Estos antecedentes hacen necesario la caracterización de la actividad proteasa producida por *Bacillus thuringiensis* RT, ya que se observó una actividad proteasa significativa en este aislamiento de nuestro laboratorio.

Materiales y Métodos: La producción de proteasa y el crecimiento bacteriano se evaluó en diferentes tiempos durante 50 h en medio M1 (medio LB suplementado con 10 g/L de suero lácteo), a 30ºC y 200 rpm. La actividad se cuantificó utilizando azocaseína. La actividad proteasa del sobrenadante obtenido en medio M1 fue caracterizada mediante zimogramas, usando como substrato gelatina. Los aparentes pesos moleculares se estimaron utilizando un marcador molecular. Se evalúo la actividad a diferentes temperaturas y pH. Se evaluó la mortalidad 7 días después del tratamiento, tanto del cultivo completo, como del sobrenadante y el pellet (obtenido luego de una centrifugación y resuspendido en un mismo volumen de agua bidestilada estéril), sobre larvas neonatas de Sf. Los resultados obtenidos se presentaron como la media con su correspondiente desvío estándar. También se realizó un análisis de varianza (ANOVA).

Resultados: De acuerdo a la curva de crecimiento obtenida en medio M1, la actividad proteolítica comienza a aumentar durante la fase estacionaria, llegando a un máximo a las 36 h. La actividad proteolítica mostró un óptimo a la temperatura de 60ºC y a pH 7. Esta actividad estaría conformada por al menos dos enzimas cuyos pesos moleculares estarían entre los 35 kDa y 20 kDa. Las larvas tratadas con el sobrenadante (fracción con la actividad proteasa) sobrevivieron, por otro lado la fracción correspondiente al pellet presentó una mortalidad similar a la del cultivo completo.

Conclusiones: Esto sugiere que las proteasas extracelulares de Bt tendrían un efecto en la producción o activación de los cristales entomopatógenos y no actuarían como factor de virulencia per se. Desde el punto de vista de un desarrollo biotecnológico resulta interesante plantear la utilización de este sobrenadante en un fin distinto al control biológico para aprovechar al máximo las diferentes fracciones producidas, por ejemplo, en la industria de alimentos, del cuero, detergente o farmacéutica. Agradecimientos: PICT 2015 2596 (FONCyT) y PIUNT 606 (UNT).

JU 107

0663 - USO DE *PSEUDOMONAS* SP. RC-93 PARA EL TRATAMIENTO DE SEMILLAS DE MANÍ MEDIANTE PELETEO Y SU INFLUENCIA SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

GIORDANO, Damián Francisco[1] | PASTOR, Nicolas[1] | ERAZO, Jessica Gabriela[1] | ODDINO, Claudio[2] | **TORRES, Adriana** [1]

IMICO-CONICET [1]; IMICO - FAV UNRC [2]

Introducción y Objetivos: El maní (*Arachis hypogaea* L.) es una especie ampliamente cultivada en todo el mundo. Argentina se ubica entre los 5 países con mayor producción y en los últimos años se ha convertido en el primer exportador mundial, concentrándose el 98% de la producción nacional en la zona centro de la provincia de Córdoba. Así, y atendiendo al mayor interés actual por el uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal, se planteó estudiar el efecto de la inoculación con *Pseudomonas* sp. RC-93 sobre el crecimiento de plantas de maní. El objetivo del trabajo fue determinar si la inoculación de semillas de maní con *Pseudomonas* sp. RC-93 incrementa parámetros de crecimiento de las plantas en ensayos de invernadero.

Materiales y Métodos: Se realizaron ensayos en invernadero durante dos años consecutivos (2018 y 2019), empleando un diseño completo al azar con 12 réplicas por tratamiento. Estos fueron: peleteado de semillas con la cepa bacteriana y control, donde se utilizó agua destilada. Las semillas de maní, previamente curadas con un terápico a base de Trifloxistribin y Protioconazole, se trataron con carboximetilcelulosa al 2% a razón de 100ml/kg de semillas y posteriormente se peletearon con 100ml/kg de suspensión bacteriana (5x106 ufc/ml), o agua destilada estéril para el control. Las variables analizadas fueron: % de emergencia a los 20 días de la siembra y altura de plantas, longitud y volumen de raíces, peso fresco y seco de parte aérea y de raíz y contenido de nitrógeno en hojas a los 75 días de la siembra. Los datos se procesaron mediante ANOVA y test de comparación de medias DGC ($P \leq 0.05$) con el programa InfoStat-Windows.

Resultados: Se observaron diferencias estadísticamente significativas en peso y volumen de raíces. Así, cuando las semillas se trataron con la suspensión de Pseudomonas sp. RC-93, el peso seco y el volumen radicular fueron de 3,6g y 22,4cm3, respectivamente, mientras que en las plantas control dichos valores fueron de 2,8g y 18,3cm3 en el año 2018. En el 2019, el peso fresco de raíces fue de 9,7g y 6,4g y el volumen de las mismas de 11,2cm3 y 8,1cm3 para las inoculadas y los controles, respectivamente. El peso seco de las raíces también fue mayor en las plantas inoculadas (2,3g) comparado con los controles (1,99g), pero sin diferencias significativas.

Conclusiones: Que no se hayan encontrado diferencias en el % de emergencia sugiere que bajo las condiciones de estos ensayos la inoculación no estimuló la emergencia de las plántulas, pero también que no la perjudicó. Por otro lado, un mayor peso y volumen de raíces indica promoción del crecimiento por parte de Pseudomonas sp. RC-93, lo que podría traducirse en un mayor rendimiento del cultivo, al tener mayor superficie de absorción de agua y nutrientes desde el suelo. Nuestro grupo de investigación multidisciplinario continúa con ensayos en invernadero y a campo con la perspectiva de evaluar los efectos de *Pseudomonas* sp. RC-93 sobre el rendimiento del cultivo.

CAM - Microbiología ambiental

JU 108

0149 - REDUCCIÓN DE LA TOXICIDAD DE UN EFLUENTE SIMULADO DE LA INDUSTRIA TEXTIL

RUSCASSO, Maria Florencia [1] | BEZUS, Brenda[1] | CURUTCHET, Gustavo[2] | CAVELLO, Ivana[1] | CAVALITTO, Sebastián[1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CONICET-UNLP) [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL, UNSAM [2]

Introducción y Objetivos: Los colorantes son compuestos químicos, sintéticos o naturales, que tienen la capacidad de impartir color. Las industrias, principalmente las textiles, utilizan toneladas de estos compuestos sintéticos al año, quedando grandes cantidades en sus aguas residuales que son vertidas a cursos de agua. Esto genera no sólo problemas estéticos en los ambientes donde son vertidos, sino también problemas con la penetración de la luz y con los animales que viven y beben de estas aguas ya que pueden ser compuestos tóxicos. Por estas razones resulta de interés el desarrollo de un proceso de tratamiento de efluentes que minimice su impacto luego de su descarte final. En este estudio se plantea un tratamiento biológico con la levadura *Candida sake* 41E, que fue aislada de la Antártida y que ha demostrado ser capaz para decolorar gran cantidad de colorantes complejos.

Materiales y Métodos: Los colorantes modelo utilizados en este trabajo fueron el Negro Reactivo 5 y el Naranja Reactivo 16, ambos son colorantes azoicos que contienen azufre. Se realizó el estudio a escala de frasco Erlenmeyer para la optimización del proceso de decoloración, utilizando el método una variable a la vez.

Se estudió el efecto del pH, la temperatura, la concentración de fuente de carbono y energía y la concentración de colorante. Luego se validó el proceso a escala de biorreactor tipo tanque agitado con 100 mg l^{-1} de colorante, 40 g l^{-1} glucosa, 1,25 g l^{-1} urea, 2,5 g l^{-1} extracto de levadura, 5 g $l^{-1}KH_2PO_4$, 0,5 g l^{-1} $MgSO_4$, 0,13 g l^{-1} $CaCl_2$ y 10 g l^{-1} NaCl. A intervalos regulares se tomaron muestras líquidas para la determinación del porcentaje de decoloración, la curva de crecimiento en función a la biomasa generada y, con el sobrenadante obtenido por centrifugación 10 minutos a 4000 g, se realizó el estudio de la ecotoxicidad sobre semillas de *Lactuca sativa* L utilizando el protocolo desarrollado por Sobrero y Ronco (2004). Se utilizó como variable de estudio el porcentaje de germinación de las mismas.

Resultados: Se observó que a tiempo inicial, con una dilución 1/10 del sobrenadante, germinaron tan solo 3 de 20 semillas ensayas, y pasadas las 72 horas de cultivo, con la misma dilución, germinó el 100% de las semillas ensayadas. Finalmente, a fin de dilucidar la naturaleza de los compuestos de degradación de los colorantes, se realizó un cultivo con el medio optimizado suplementado con 300 mg l^{-1} del colorante. Se tomaron muestras a intervalos de tiempo regulares cuyos sobrenadantes fueron analizados por espectroscopía UV-Vis y HPLC – masa. Se observó la desaparición de el o los picos correspondientes al colorante, y la aparición de nuevos picos pertenecientes a los metabolitos de degradación de los tintes por parte de la levadura seleccionada.

Conclusiones: Estos resultados permiten suponer que puede desarrollarse un proceso de tratamiento de efluentes textiles, utilizando la levadura *Candida sake* 41E, como una alternativa eficiente, económica y de bajo impacto ambiental.

JU 109

0169 - ESTUDIO DEL POTENCIAL DE UN CONSORCIO DEFINIDO DE ACTINOBACTERIAS PARA REMEDIAR SISTEMAS LÍQUIDOS ADICIONADOS SIMULTÁNEAMENTE CON MÚLTIPLES CONTAMINANTES Y DE SU SOBREVIDA LUEGO DEL TRATAMIENTO

ANTEZANA, Pablo Edmundo[1] | **RULLI, Macarena María** [2] | BENIMELI, Claudia Susana[2] | COLIN, Veronica Leticia[2] | FUENTES, María Soledad[2]

FACULTAD DE BIOQUIMICA Y FARMACIA (UBA), CÁTEDRA DE ANALÍTICA INSTRUMENTAL [1]; PROIMI [2]

Introducción y Objetivos: La presencia simultánea de más de un contaminante, puede causar numerosos peligros tanto para la salud humana como para el ambiente, por lo cual es necesario encontrar organismos capaces de remediar sitios co-contaminados. Entre ellos se destacan las actinobacterias, microorganismos metabólicamente versátiles, con gran potencial para degradar y/o remover diversos contaminantes, incluyendo plaguicidas, colorantes e hidrocarburos. Su uso en biorremediación resulta particularmente prometedor, sobre todo si son empleadas en consorcios microbianos definidos constituidos por cepas con capacidades degradativas conocidas que, inoculadas en conjunto, incrementan las rutas metabólicas disponibles para degradar contaminantes. En base a lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de un consorcio de actinobacterias para crecer en sistemas líquidos contaminados artificialmente con Lindano (gamma-HCH), Fenantreno (Fn) y Reactivo Negro 5 (RNV), remover dichos contaminantes y sobrevivir frente a las condiciones ensayadas.

Materiales y Métodos: Para ello, se empleó un consorcio microbiano definido (*Streptomyces* sp. A5, M7, MC1, *Amycolatopsis tucumanensis* DSM 45259), seleccionado previamente por su capacidad para crecer y remover individualmente los compuestos en estudio. Dicho consorcio fue inoculado (2 g L-1) en medio mínimo (MM) estéril, contaminado con una mezcla de Fn (17,8 mg L-1), gamma-HCH (2 mg L-1) y RNV (200 mg L-1) e incubado durante 6 días a 30 °C, tomando muestras para realizar determinaciones de crecimiento microbiano (peso seco), concentración residual de contaminantes (ECD-GC, HPLC, espectrofotometría) e identificación bioquímica (sensibilidad frente a antibióticos) y molecular (RAPD-PCR) de las actinobacterias inoculadas.

Resultados: Al evaluar la capacidad del consorcio microbiano para crecer en MM contaminado simultáneamente con gamma-HCH, Fn y RNV, no se detectaron diferencias significativas entre los valores de biomasa alcanzados por el mismo al final del ensayo, en presencia (1,19 ± 0,16 g L-1) y ausencia (1,15 ± 0,25 g L-1) de la mezcla estudiada, sin embargo, se vio afectada su velocidad específica de crecimiento, la cual disminuyó en presencia de la mezcla. Con respecto a la remoción de los contaminantes por parte del consorcio, se detectaron valores correspondientes a 36,7%, 59,0% y 18,0% de remoción para Fn, gamma-HCH y RNV, respectivamente. Finalmente, al realizar la identificación bioquímica y molecular de los microorganismos presentes en los sistemas contaminados e inoculados, se detectaron al final del ensayo, las cuatro actinobacterias pertenecientes al consorcio estudiado.

Conclusiones: Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten proponer al consorcio de actinobacterias evaluado como una herramienta promisoria para biorremediar sistemas líquidos co-contaminados.

JU 110

0283 - ESTUDIOS DE SIMULACIÓN DEL CONTROL POSTRADUCCIONAL POR OXIDACIÓN DE LA PROTEÍNA FIXK2 DE BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS

PAREJO, Sergio[1] | CABRERA, Juan J.[1] | JIMÉNEZ-LEIVA, Andrea[1] | TOMÁS-GALLARDO, Laura[2] | BEDMAR, Eulogio J.[1] | **MESA, Socorro** [1]

DEPARTAMENTO MICROBIOLOGÍA DEL SUELO Y SISTEMAS SIMBIÓTICOS, ESTACIÓN EXPERIMENTAL DEL ZAIDÍN, CSIC [1]; SERVICIO DE PROTEÓMICA Y BIOQUÍMICA, CABD, UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE-CSIC [2]

Introducción y Objetivos: Bradyrhizobium diazoefficiens es una especie del orden Rhizobiales capaz de establecer simbiosis con plantas de soja dando lugar a unas estructuras especializadas, los nódulos, en los cuales tiene lugar el proceso de fijación biológica del nitrógeno por acción de la enzima nitrogenasa en condiciones de limitación de oxígeno (microoxia). La proteína FixK2 es un factor transcripcional de tipo CRP/FNR que juega un papel clave en la regulación de genes esenciales en para el metabolismo anóxico, micróxico y simbiótico de B. diazoefficiens. Uno de los genes regulados por FixK2 es el operón fixNOQP que codifica la oxidasa terminal cbb3 de alta afinidad por oxígeno necesaria para la respiración bacteriana en el ambiente microóxico del nódulo. FixK2, como otros ortólogos, reconoce a través de un dominio localizado en su parte carboxilo terminal, una secuencia palindrómica imperfecta (caja FixK2), asociada al promotor de los genes que regula. La expresión del gen fixK2 se induce por el sistema de dos componentes FixLJ en respuesta a microoxia y se autoregula negativamente por un mecanismo desconocido. Además, la actividad de FixK2 está controlada a nivel postraduccional, por proteólisis y por oxidación, en respuesta a estrés oxidativo del único residuo de cisteína (C183) de la proteína. Recientemente, la estructura de FixK2 en asociación con ADN ha desvelado que la oxidación de C183 da lugar a la inactivación de FixK2, debido a la proximidad de este residuo al dominio de unión a ADN.

Materiales y Métodos: Para simular el mecanismo de inactivación por oxidación de FixK2, se construyó un derivado de la proteína en el que el residuo C183 se intercambió por ácido aspártico, y a continuación se analizó su efecto sobre: (i) la capacidad de interacción proteína-ADN mediante resonancia de plasmones de superficie (RPS); (ii) la actividad de la proteína in vitro (trancripción in vitro, IVT); (iii) su fenotipo simbiótico en plantas de soja evaluado como actividad reductora de acetileno (ARA) y contenido en nitrógeno (N); (iv) los niveles de proteína determinados mediante inmunodetección.

Resultados: Proteína C183D FixK2 purificada interactuó débilmente con la caja FixK2 presente en el promotor fixNOQP en experimentos de RPS, al mismo tiempo sólo fue capaz de activar parcialmente la transcripción de los genes fixNOQP en ensayos de IVT (aproximadamente un 25% de la actividad de la proteína parental). Sin embargo, tanto los valores de ARA como de contenido en N de plantas de soja inoculadas con una cepa sin marcador que codifica C183D FixK2 fueron similares a las inoculadas con la cepa parental.

Conclusiones: La controversia entre estos resultados se explicaría por los niveles incrementados de proteína C183D FixK2 en comparación con la proteína parental, que podrían compensar su menor capacidad de interacción con ADN así como su actividad in vitro. El perfil de expresión génica distinto de la cepa que codifica C183D FixK2 al de la parental podría también contribuir a dicho efecto compensatorio.

JU 111

0307 - CALIDAD MICROBIOLOGICA DE AGUAS DE USO RECREATIVO EN LA COSTA DE BERISSO, PROVINCIA DE BUENOS AIRES

GALLI, Lucia [1] | BARRIOS, Melina E.[2] | DIAZ, Sofia M.[3] | CAMMARATA, Robertina V.[2] | TORRES, Carolina[2] | FORTUNATO, M. Susana[4] | GARCÍA LÓPEZ, Guadalupe[4] | KOROL, Sonia E.[4] | GALLEGO, Alfredo[4] | COSTA, Magdalena[1] | BLANCO FERNÁNDEZ, M. Dolores[2]

IGEVET-CONICET (FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS UNLP-CONICET) [1]; CÁTEDRA DE VIROLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. CONICET [2]; CÁTEDRA DE VIROLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [3]; CÁTEDRA DE SALUD PÚBLICA E HIGIENE AMBIENTAL. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UBA [4]

Introducción y Objetivos: Las aguas recreativas pueden ser vehículo de patógenos entéricos por el vertido de efluentes cloacales o industriales con o sin tratamiento. Para proteger la salud humana y la vida acuática existen estándares tales como los establecidos por la resolución 42/06 de la Autoridad del Agua (Bs.As.). El objetivo de este trabajo consistió en estudiar la calidad microbiológica del agua de dos playas de la región costera del Río de la Plata en la localidad de Berisso, provincia de Buenos Aires: La Balandra (P1) y Bagliardi (P2). Los datos obtenidos serán utilizados para un análisis de riesgo microbiológico cuantitativo en el contexto del uso recreativo de estas aguas.

Materiales y Métodos: En el período estival diciembre 2017 – febrero 2018, se realizó un muestreo semanal de cada playa y en un canal cercano a la planta de tratamiento de efluentes que descarga río arriba de P2. Se determinaron parámetros físico-químicos y microbiológicos. El recuento de indicadores fecales se realizó mediante pruebas convencionales y la búsqueda de patógenos bacterianos y virales se realizó a través de enriquecimiento en medio nutritivo y concentración por ultrafiltración respectivamente, seguido de PCR y qPCR.

Resultados: Los indicadores convencionales mostraron mayor grado de contaminación en P2 y en el canal que en P1. Los valores de recuentos de *Escherichia coli* y Enterococos para P2 fueron de 2,78 x 10^4 y 2,58 x 10^3 UFC/100 ml, mientras que para P1 fueron de 79 y 77 UFC/100ml respectivamente. En P2, la frecuencia de detección de los indicadores virales: bacteriófagos F-RNA específicos y poliomavirus humanos (HPyV, indicador viral de contaminación asociada a humanos) fue del 92% (6/12) y 83% (20/24) respectivamente, mientras que la del patógeno viral norovirus fue de 17% (6/24). En P1, la frecuencia de detección de F-RNA y de HPyV fue del 50% (6/12) y 25% (6/24), respectivamente. Se observaron correlaciones fuertes entre los indicadores bacterianos, y moderadas entre enterobacterias, F-RNA, HPyV y norovirus. Se aislaron 6 cepas de *Salmonella* spp., 6 EPEC, 3 *E. coli* O157 no toxigénicas, 1 EIEC en las muestras de P2 y se detectó *E. coli* O157 y *Salmonella* spp en P1. A partir de muestras del canal se aislaron 5 cepas de *Salmonella* spp., 3 EPEC, 1 EIEC, 1 *E. coli* O157 no toxigénica. Cabe destacar que en muestras de P2 y del canal se aislaron cepas de un mismo serogrupo. Para sustentar la hipótesis de que se trataría de cepas clonales, se realizará su subtipificación.

Conclusiones: Como conclusión, el incumplimiento de los criterios de calidad de aguas, y la detección o aislamiento de bacterias y virus patógenos, suponen un riesgo para la salud de las personas durante el desarrollo de actividades recreativas. Pasar del uso de límites permitidos al del manejo de riesgos es un enfoque alternativo. El uso de indicadores virales de contaminación y la búsqueda de bacterias y virus entéricos patógenos para la evaluación cuantitativa de riesgo en aguas recreacionales es novedoso y con escasos antecedentes locales.

JU 112

0354 - EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DE HIDROCARBUROS EN EL ACUÍFERO FREÁTICO DE BAHÍA BLANCA MEDIANTE LA CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE HIDROCARBUROS

ZANELLO, Victoria[1] | **CUBITTO, María Amelia** [2] | LEXOU, Claudio[3]

CENTRO DE GEOLOGÍA APLICADA, AGUA Y MEDIO AMBIENTE (CGAMA-CIC-UNS) [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA [2]; UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR, DEPARTAMENTO DE GEOLOGIA [3]

Introducción y Objetivos: Una causa de contaminación del acuífero freático de Bahía Blanca son las pérdidas de hidrocarburos (HC) en las estaciones de servicio. Las Bacterias degradadoras de HC o Hidrocarburoclásticas (BDH), son un grupo de microorganismos heterótrofos con capacidad de utilizar los combustibles como única fuente de carbono y pueden presentarse incluso en aquellos ambientes que no reciben el aporte de HC, donde se encuentran en muy bajo número o pueden no ser detectadas. La llegada de HC les brinda una ventaja adaptativa por lo cual su número se incrementa notablemente. Así, la abundancia de BDH es un indicador de contaminación por HC. El objetivo de este estudio fue conocer la magnitud de la población de BDH en el acuífero freático de la ciudad de Bahía Blanca, en zonas impactadas por estaciones de servicio

Materiales y Métodos: Se obtuvieron muestras de agua de pozos de monitoreo ubicados en 3 estaciones de servicio (L, M y ACH) que acusaron pérdidas de HC hacia el acuífero y en donde la fase líquida fue removida por sistema de bombeo. Tres pozos en el sitio L (PAD1A, PAD4A, PAD11), 2 pozos en M (PM2 y PM4) y 1 pozo el ACH (PM1). También se incluyeron 2 pozos control (PAD1 y PAD4) del sitio W, donde no se registraron pérdidas. El recuento de BDH se realizó por la técnica de Número Más Probable (NMP) en el caldo mineral Bushnell Hass con 1 % petróleo crudo como única fuente de carbono y energía. Se incluyeron controles sin petróleo inoculados con la primera dilución. Se utilizó una combinación de 3 tubos por dilución y se incubaron a 25ºC durante 30 días. El NMP BDH/mL se determinó utilizando las tablas de McCrady. A cada muestra se sumaron determinación de BTEX y características físico químicas.

Resultados: El NMP de BDH/mL fueron los siguientes: sitio L: PAD1A: 1,5 x 10^4, PAD4A: 4,4 x 10^4 y PAD11: 1,1 x 10^4; sitio M: PM2: 2,4 x 10^3 y PM4: 1,0 x 10^3; sitio ACH: PM1: 1,4 x10^3; sitio W: PAD1: 3,5 y PAD4: 110. A pesar de la remediación, en todos los pozos sometidos a este proceso se detectó un número de BDH/mL significativo. Solo en PAD1A, PAD4A se detectaron BTEX, lo cual coincide con los mayores recuentos. Por otro lado en el sitio M no se detectan hidrocarburos, pero el número de BDH se mantiene en un orden de magnitud de 10^3, indicando la persistencia de combustibles como saturación residual, posiblemente puestos en suspensión por la actividad microbiana. En PM2, PM4 y PAD4A se observó efecto surfactante sobre el petróleo crudo, confirmándose esta capacidad en las cepas aisladas. La zona control (pozos PAD1 y PAD4) arrojaron recuentos bajos de 3,5 y 110 NMP BDH/mL respectivamente.

Conclusiones: Es sabido que la respuesta de las poblaciones bacterianas actúa como alerta temprana de contaminación, aun cuando no puede ser detectada por los controles químicos. En este caso, los recuentos de BDH, que contrastan con los pozos control, indican la persistencia de HC en los sitios sometidos a remediación.

JU 113

0946 - ANÁLISIS DE LOS ENTORNOS GENÉTICOS DE INTRONES DEL GRUPO II PRESENTES EN GENOMAS DE BACTERIAS MARINAS

MAC CORMACK, Walter P[1] | NAPOLITANO, Nicolás[2] | **VAZQUEZ, Susana** [3] | QUIROGA, Cecilia[2]

INSTITUTO ANTÁRTICO ARGENTINO; INSTITUTO NANOBIOTEC (FFYB) UBA-CONICET [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (UBA-CONICET) [2]; CÁTEDRA DE BIOTECNOLOGÍA, FFYB; INSTITUTO NANOBIOTEC UBA-CONICET [3]

Introducción y Objetivos: Los intrones del grupo II son enzimas de ARN o ribozimas que se encuentran ampliamente distribuidas en plantas, hongos, algas y bacterias. Estas ribozimas están conformadas por amplias regiones no codificantes y por una secuencia codificante denominada IEP (*intron encoded protein*). Las ribozimas poseen diversas actividades, tales como splicing y movilización, por medio de un intermediario de ARN. El ARN y la proteína IEP del intrón del grupo II actúan coordinadamente, lo que resulta en la invasión de un genoma de forma específica. Los intrones del grupo II se clasifican en diversos subgrupos: cloroplasto (Cl1 y Cl2), mitocondrial (Ml) y bacteriano (A a F). Estudios previos demostraron que los intrones del grupo II se asocian a elementos genéticos móviles (EGM). En particular, los intrones del grupo II clase C pueden asociarse a genes-cassettes de resistencia antibiótica localizados en integrones. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la estructura de los intrones del grupo II presentes en metagenomas de sedimentos de regiones submareales y analizar el entorno genético de estos elementos.

Materiales y Métodos: Se buscaron intrones del grupo II, por métodos in-silico, en 11 metagenomas (6 de Caleta Potter, Isla 25 de Mayo, Antártida y 5 del Mar Báltico en Vartahamnen, Suecia) usando la proteína IEP como *query*. Se utilizaron las secuencias aminoacídicas de las respectivas proteínas IEP para clasificar los candidatos detectados mediante la construcción de árboles filogenéticos por máxima verosimilitud con el programa MEGA V.7.0. Se plegaron las secuencias de ARN de 5 intrones del grupo II de distintas clases con el programa mFOLD para estudiar sus respectivas estructuras secundarias. Se analizaron los entornos genéticos mediante el análisis comparativo por blastn, blastp y blastx.

Resultados: Se detectaron 506 posibles intrones del grupo II, los cuales fueron luego clasificados mediante el análisis filogenético de las proteínas IEP. Esto reveló que 141 ribozimas se agrupaban formando nuevos linajes. El análisis de la estructura secundaria de algunos de estos elementos demostró que poseen la arquitectura característica, correspondiente a 6 dominios doble hélice irradiando de una rueda central. Por otro lado, se observó que estos intrones del grupo II se encontraban en el genoma de bacterias pertenecientes a diversos géneros, como *Shewanella* y *Vibrio*, entre otros. Asimismo, se comprobó que varios intrones del grupo II se encontraban adyacentes a transposasas, recombinasas o integrasas, que indican la presencia de EGMs en las inmediaciones.

Conclusiones: Este estudio evidenció la existencia de nuevas clases de intrones del grupo II en metagenomas marinos. Estos elementos contendrían las características estructurales necesarias para diseminarse e invadir nuevas regiones de un genoma. La asociación de intrones del grupo II a EGMs sugiere que estos elementos podrían ser diseminados a otros organismos por eventos de transferencia horizontal genética, participando de esta forma en la evolución de los genomas bacterianos.

JU 114

0441 - OBTENCIÓN DE CONSORCIOS DEGRADADORES DE HIDROCARBUROS PARA LA DETECCIÓN DE MARCADORES FUNCIONALES DE DEGRADACIÓN EN SEDIMENTOS CONTAMINADOS

FERNÁNDEZ, Nicolás[1] | ZULUETA, Martina[1] | MORELLI, Irma Susana[2] | **MADUEÑO, Laura** [1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CINDEFI-UNLP) [1]; CIC PBA, LA PLATA, ARGENTINA [2]

Introducción y Objetivos: La Recuperación Natural Monitoreada (RNM) es una estrategia de remediación que aprovecha los procesos fisicoquímicos que ocurren en el ecosistema y las capacidades naturales de la población microbiana autóctona de degradar los contaminantes. Evidenciar la capacidad potencial de degradación en la comunidad microbiana autóctona mediante la presencia de bacterias y/o genes degradadores es indispensable en los estudios de factibilidad de la RNM, siendo un buen modelo de estudio los consorcios microbianos degradadores naturalmente seleccionados, debido a que aumentan la proporción de microorganismos degradadores y con ello su detección. El objetivo del presente trabajo fue obtener consorcios degradadores de hidrocarburos a partir de sedimentos de agua dulce contaminados, evidenciar su diversidad por técnicas de clásicas de cultivo y moleculares, y determinar la presencia de bacterias y genes vinculados con la degradación.

Materiales y Métodos: Dos muestras de sedimentos de un curso de agua dulce contaminado con hidrocarburos y de diferente profundidad (20 y 40 cm) se inocularon en medio mineral (MM) líquido con fenantreno u octadecano como única fuente de carbono y energía (FCE). A los 10 días una alícuota fue repicada en medio fresco y este proceso se repitió tres veces hasta obtener los consorcios. A partir de los consorcios obtenidos se determinó el fenantreno/octadecano remanente (HPLC y GC), se realizaron recuentos en R2A, en MM sólido con fenantreno como única FCE, NMP de degradadoras de octadecano, extracciones de ADN total y

PCR-DGGE. Se aislaron microorganismos de los consorcios, se les extrajo de ADN y se secuenció el gen 16S rRNA. Con todas las muestras de ADN obtenidas de realizó PCR utilizando cebadores que amplifican genes funcionales de diferentes géneros bacterianos.

Resultados: Se lograron obtener dos consorcios degradadores de octadecano (P20O, P40O) y dos de fenantreno (P20F, P40F) que lograron eliminar alrededor de 50% y 99% de fenantreno y octadecano respectivamente. Diferencias observadas en la diversidad de colonias y en los perfiles de bandas de PCR-DGGE mostraron consorcios estructuralmente diferentes, obteniendo en el consorcio P20O el perfil más diverso, y en P20F el mayor número de microorganismos aislados (15). A partir de P20F se lograron aislar los microorganismos *SPHINGOMONAS* sp., *PSEUDOMONAS* sp. y *ALCALIGENES* sp. Mediante PCR se lograron detectar la presencia de los genes alcano-1-monooxigenasa, 2,3 catecol dioxigenasa, 1,2 naftaleno dioxigenasa en el ADN de los consorcios y en algunos de los cultivos aislados.

Conclusiones: Conclusión: Las estructuras microbianas diferentes obtenidas en los cuatro consorcios, el aislamiento de microorganismos potencialmente degradadores y la detección de genes funcionales muestran que los cultivos de enriquecimiento obtenidos a partir del sedimento de interés podrían ser útiles para la selección de marcadores funcionales aplicables durante un proceso de RNM.

JU 115

0465 - ESTUDIO PROTEOMICO DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ATCC 32051 EXPUESTA A METALES PESADOS

DELLA VEDOVA, Maria Cecilia [1] | BONILLA, José Oscar[1] | CALLEGARI, Eduardo Alberto[2] | PAEZ, Maria Daniela[3] | VILLEGAS, Liliana Beatriz[1] | GIL, Raul Andres[1]

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. [1]; 2DIVISION OF BASIC BIOMEDICAL SCIENCES, SANFORD SCHOOL OF MEDICINE, UNIVERSITY OF SOUTH DAKOTA, VERM [2]; DIVISION OF BASIC BIOMEDICAL SCIENCES, SANFORD SCHOOL OF MEDICINE, UNIVERSITY OF SOUTH DAKOTA, VERM [3]

Introducción y Objetivos: Los metales pesados afectan profundamente los sistemas biológicos ya sea porque son esenciales o porque son tóxicos cuando están presentes en cantidades excesivas. Empleando una multiplicidad de mecanismos de homeostasis los microorganismos desempeñan un importante papel en la captación de metales tóxicos del medio ambiente. Estos mecanismos son componentes naturales de los ciclos biogeoquímicos y de potencial importancia tanto en procesos de biorremediación *in situ* como *ex situ*. El objetivo del presente estudio fue evaluar la expresión diferencial de proteínas intracelulares de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 32051 expuesta a Cr(VI) y Cu(II).

Materiales y Métodos: Se trabajó con una cepa de colección *S. cerevisiae* ATCC 32051 la cual se cultivó en medio EG (g/L: Glucosa 10; K_2HPO_4 0,25; KH_2PO_4 0,125; $MgSO_4$ 0,1; extracto de Levadura 1) suplementado con 30 ppm de Cr(VI) o Cu(II), concentraciones correspondiente al 50% de la CIM obtenida para cada uno de los metales en estudio. Para extraer las proteínas intracelulares se trabajó con la fracción celular de *S. cerevisiae* obtenida por centrifugación de un medio de cultivo líquido en presencia y ausencia (Co) de cada metal después de 48h (Cu(II)) y 72h (Cr(VI)) de incubación, correspondientes a la fase exponencial de crecimiento.Las proteínas citosólicas se obtuvieron por ruptura celular con N2 líquido y separación de los restos celulares por centrifugación. Se determinó la concentración de proteínas por método de Bradford y se liofilizó un volumen correspondiente a 300µg de de las mismas. Las muestras se analizaron mediante "shotgun proteomics" utilizando nanoUHPLC-ESI-MS/MS. El análisis bioinformático se realizó utilizando la base de datos de Swiss-Prot específica para *S. cerevisiae* y MASCOT v2.5.1. El análisis comparativo de expresión proteica de las muestras se realizó por medio de ProteoIQ v2.8.

Resultados: Se logró identificar un total 871 proteínas, de las cuales 74 proteínas eran solo expresadas por las células control (Co); 23 proteínas se encontraron en presencia de Cr(VI) y 95 proteínas cuando la levadura creció en presencia de Cu(II). Las 382 proteínas restantes eran compartidas por *S. cerevisae* en las tres condiciones de cultivo. A partir de los resultados de proteoIQ se observó que tanto en presencia de Cu(II) como Cr(VI) se sobre-expresaron proteínas ribosomales, pero solo en presencia de Cu(II) aumentó la expresión de proteínas con actividad oxidorreductasa, entre las que se pueden destacar proteínas de choque térmico, Superoxido dismutasa y Glutatión Reductasa.

Conclusiones: Los resultados demuestran que las células expuestas a Cu(II) obtuvieron la ventaja de soportar condiciones desfavorables, mientras que en las células expuestas a Cr(VI) se observó una disminución de la expresión de proteínas importantes para la reparación y el funcionamiento celular. Esta respuesta observada se condice con la disminución de la viabilidad y resistencia a los metales obtenidos en trabajos previos.

JU 116

0549 - INVESTIGACIÓN DE BACTERIAS DEL GRUPO ENTEROBACTERIACEAE FORMADORAS DE BIOFILMS (CON *ESCHERICHIA COLI* COMO INDICADOR DE

CONTAMINACIÓN FECAL) PRESENTES EN AGUAS DEL RÍO SAN JUAN- PROVINCIA DE SAN JUAN

PASTOR, Maria Alejandra | VARELA, Patricia

IBT FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ

Introducción y Objetivos: El crecimiento de la población y los cambios ecológicos y ambientales, han incrementado la contaminación de fuentes de agua, lo que suele estar relacionada con el vertido de efluentes no tratados a los cuerpos de las mismas. La carga contaminante es mayormente materia orgánica y microorganismos de origen fecal. El control de calidad microbiológica del agua de consumo y de vertido, requiere la determinación de bacterias potencialmente patógenas, para lo cual se usa la detección de "indicadores" que tienen un comportamiento similar a los patógenos siendo más rápidos, económicos y fáciles de identificar. Con la presencia de indicadores se puede inferir que los patógenos se encuentran por lo menos en la misma concentración y que su comportamiento frente a diferentes factores como pH, temperatura, presencia de nutrientes, etc. es similar a la del indicador. *Eschericha coli* es indicador de contaminación fecal debido a su relación con géneros como *Salmonella* y *Klebsiella*. El biofilm es una estrategia adaptativa de los microorganismos, la matriz está compuesta por exopolisacáridos (EPS) que pueden adherirse a márgenes y cauces fluviales. Cepas del grupo Enterobacteriaceae pueden integrarse a EPS, siendo posible su incorporación al organismo humano por contacto directo o a través del agua que ha sido contaminada desde el sistema, pudiendo provocar enfermedades por intoxicación o infección. El río San Juan recibe el aporte del Arroyo Los Tapones, que está sometido a intervenciones antrópicas como el volcado de efluentes cloacales provenientes de la planta depuradora de Bajo Segura. En este trabajo se investigó la calidad bacteriológica en aguas del Río San Juan en el tramo Pinar-S1 (desembocadura del Dique Ignacio de la Roza), -S2 (aguas abajo de la desembocadura del Arroyo Los Tapones).

Materiales y Métodos: Se tomaron muestras de agua del río en ambos puntos, S1 y S2. Se realizó muestreo trimestral durante 9 meses, entre enero y agosto del 2018. Las muestras se incubaron en dispositivos diseñados para el desarrollo de biofilms durante 5 días, el cual se retiró y dispersó en agua peptonada bufferada, se incubó 24 hs a 28°C. La suspensión se sembró en medios de cultivo EMB y SS. Se realizaron pruebas bioquímicas para identificar a nivel de género.

Resultados: Se aisló el 25% de las ufc, seleccionadas aleatoriamente con los siguientes resultados: *E.coli* S1:27,89% y S2:16,36%; *Salmonella*: S1:45,86% y S2:50,98%; *Klebsiella*: S1:30,23% y S2:32,64%.

Conclusiones: Como puede observarse, si bien está presente *E.coli*, en ambos sitios, el % en que se encuentra no sólo no es el mayor como cabría esperar como indicador de contaminación fecal, sino que no se correlaciona proporcionalmente con *Klebsiella* ni con *Salmonella*, géneros difíciles de detectar e identificar, razón por la cual en este caso *E.coli* no ha sido un buen indicador y de haberlo usado solo, hubiera inducido a un error en la evaluación de la población bacteriana de las aguas en estudio, con el consecuente riesgo sanitario.

JU 117

0632 - AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS CON CAPACIDAD DEGRADORA DE PLASTICOS DEL RELLENO SANITARIO "LOS CORAZONES" EN LA CIUDAD DE VALLEDUPAR

CARRILLO, Ana | DAZA, Luisa Fernanda | ORTIZ, Orieta

SENA-CENTRO BIOTECNOLOGICO DEL CARIBE

Introducción y Objetivos: Existe un gran interés en la degradación microbiana del material plástico y de polietileno, Kambe et al. en 1995, fue el primero en aislar y caracterizar una bacteria del suelo que utiliza poliuretano de poliéster como única fuente de carbono y nitrógeno. Investigaciones realizadas por Dey et al, en 2012 revelaron que diversos microorganismos en el suelo son capaces de degradar los plásticos, aunque a un ritmo más lento. Desde el 2015 se han realizado aislamientos de microorganismos presentes en desechos plásticos presentes en diferentes océanos, donde estos crean islas y constituyen la mayor fuente de contaminación ocasionando la muerte de números peces, tal es el caso de los biofilms microbianos asociados a desechos plásticos descritos por De tender et al. La investigación realizada por Urbanek et al, 2017, proporciono evidencia de la colonización de polímeros por microorganismos como Rhodobacetrias, Streptomyces y Cianobacterias. Y en 2016, Yoshida et al, logro aislar una nueva bacteria denominada Ideonella sakaiensis 201-F6, que puede utilizar el PET como única fuente de carbono. De aquí surge el interés de continuar en la búsqueda de otros microorganismos que ayuden disminuir la contaminación provocada por los plásticos. Y surge la pregunta que dio inicio a la presente investigación: ¿Es posible aislar microorganismos de muestra de suelos y lixiviados provenientes del relleno sanitario de la ciudad de Valledupar, con capacidad de utilizar el plástico como única fuente de carbono? A continuación, se describen los métodos realizados para

aislar diferentes microorganismos de las muestras tomadas del relleno sanitario de la ciudad de Valledupar, los cuales en un futuro pueden ser empleados como biorremediadores o aceleradores de la descomposición de materiales plásticos. Objetivos específicos: 1.Obtención de microorganismos aislados a partir de suelo contaminado con residuos plasticos. 2.Evaluar la actividad degradadora de PET, poliestireno y LDPE de los microorganismos aislados de los residuos plasticos provenientes del relleno sanitario. 3. Caracterizar e identificar las cepas aisladas con mayor actividad degradadora

Materiales y Métodos: El presente trabajo es una investigación cuantitativa de tipo experimental; el desarrollo metodológico se realizó en diferentes fases, a continuación, se describen cada una de ellas.

Resultados: La piscina No.1 para lixiviados presento un PH de 6.84 y una Temperatura 25 ºC, y la celda occidental donde se tomó la muestra de suelo contaminado, presento un PH de 6.88 y Temperatura de 27ºC; teniendo en cuenta la alta carga microbiana, se realizó diluciones hasta 10-9.

Conclusiones: Se lograron aislar tres géneros bacterianos y 2 géneros de hongos capaces de utilizar el poliestireno como única fuente carbono, plástico de amplio uso en envases de alimentos y que se encuentran en gran cantidad en el relleno sanitario "los corazones" de la ciudad de Valledupar. Los géneros identificados de bacterias son similares a los encontrados en la literatura escrita por Dey et al, 2012 y Skariyachan, 2015, quienes sus estudios describen a *Speudomona* sp. *Bacillus* sp. y *Microbacterium* sp. como generos capaces de degradar plasticos. En el caso de los genereos de hongos aislados, en la literatura investigada no se encontro reporte de estos, lo cual implicaría un aporte importante de esta investigación. Se requiere continuar con la identificación a nivel molecular de los generos aislados y la evaluación de su capacidad enzimatica, con el fin de determinar las enzimas que actuan en la degradación del poliestireno y evaluarlos en otros tipos de plasticos.

JU 118

0648 - ISOLATION, IDENTIFICATION AND TOLERANCE TO MAGNESIUM SULFATE AND PERCHLORATE IN BACTERIA FROM SALAR DE ANTOFALLA, ARGENTINA

PEREIRA DE MEDEIROS, Vanise [1] | GRASSOTTI, Tiela[1] | DORNELLES, Luana[1] | RODRIGUES, Fabio[2] | FARIAS, Maria Eugenia[3] | FRAZZON, Ana Paula[1]

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL [1]; UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO [2]; LABORATORIO DE INVESTIGACIONES MICROBIOLÓGICAS DE LAGUNAS ANDINAS (LIMLA), PROIMI, CONICET [3]

Introduction and objectives: The ability of some microorganism to survive and multiply in extreme conditions could help to comprehend the life in the extraterrestrial environments. Microorganisms from High-Altitude Andean Lakes (HAAL) have the potential of becoming attractive models for the understanding the tolerance to osmotic stress. The presence salts such as magnesium sulfate (MgSO4) and magnesium perchlorate [Mg(ClO4)2] in Mars can indicate the presence of liquid water on its surface and subsurface, what is important for the existence of life. Considering these salts are found in the Atacama Desert, the present study tested the tolerance to different concentrations of magnesium sulfate and perchlorate of extremophilic microorganisms present in a microbial mat in Ojos de Campo lake, located in the Salar de Antofalla, Argentina, as a model for astrobiology.

Materials and methods: In order to isolate bacterial, 1 g of the collected sediment was suspended in 10 mL of saline 0.85%, inoculated in Marine Broth Medium and incubated for 2 days in 15, 37 and 45 °C under aerobic and anaerobic conditions. For identification, the isolates were submitted to MALDI-ToF and to 16srRNA gene sequencing analysis. To evaluate the tolerance of magnesium perchlorate salt the strains were tested against different concentrations of Mg(ClO4)2 (0.25, 0.5 and 1.0 M)at 30 °C for 24 h. The ability of pre-selected strain to growth in the presence of different concentrations of MgSO4 (and Mg(ClO4)2 and NaCl was determined using culture growth by optical density (OD) measurements at 600 nm after 6, 12, 18, 24 and 48h.

Results: A total of 34 strains were isolated and were identified as belonging to the genera *Bacillus* spp. (n=23), *Halomonas* spp. (n=4) and *Shewanella* sp. (n=7). No anaerobic bacteria were isolated. After sequencing, the *Halomonas* strains were classified as *H. boliviensis* (n=1), *H. alkaliantartica* (n=2) and *H. glaciei* (n=1). Of the 34 strains, 19 strains (*Bacillus* spp. n=13 *Halomonas* spp. n=3, *Shewanella* sp. n=3), showed biomass production visible by turbidity in 0.5 M of Mg(ClO4)2, *H. boliviensis* was the only one able strain to growth in 1.0 M of Mg(ClO4)2 after 15 h. This strain were also able to growth in: 5%, 15% and 25% of NaCl; 0.5M, 1.0M, 1.5M and 2.0M of MgSO4; and 0.5M and 1.0M of Mg(ClO4)2 .

Conclusions: The presence of moderate halophilic organisms in Ojos de Campo lake, despite inhabiting a hypersalineic environment, supports the characterization of adaptable organisms with versatile metabolism. Thus, the organisms used in this study are able to tolerate expressive concentrations of salts found in the Martian environment, presenting themselves as candidates to be used as models of astrobiological research.

JU 119

0661 - ANÁLISIS DE LA DEGRADADIÓN DEL HERBICIDA GLIFOSATO DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS AUTOCTONOS DE LA PROVINCIA DE SANTA FE

MASOTTI, Fiorella | GARAVAGLIA, Betiana | GOTTIG, Natalia | OTTADO, Jorgelina

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos: El glifosato o N-fosfometilglicina ($C_{3\ H8NO\ 5P}$) es un compuesto químico fosfonato utilizado ampliamente en la agricultura y en particular en Argentina, debido a su capacidad herbicida de amplio espectro. A pesar de que su mecanismo de acción no afecta a mamíferos, se han reportado varios efectos sobre la salud humana y los ecosistemas. En este contexto, resultaría útil tener herramientas que permitan detoxificar la molécula de glifosato de los ambientes naturales a través de la biorremediación. Es por ello que, en nuestro laboratorio, se han aislado e identificado 72 cepas bacterianas diferentes que podrían degradar glifosato utilizándolo como fuente de fósforo para su crecimiento a partir de suelos del sur de la provincia de Santa Fe, expuestos a reiteradas aplicaciones del herbicida. El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de degradación de glifosato de estos aislamientos.

Materiales y Métodos: Para la determinación de la degradación del herbicida, se realizó la cuantificación de la concentración de glifosato (GP) remanente en los sobrenadantes de cultivo luego del crecimiento de cada cepa en el medio mínimo MS1 suplementado con 0,25 g/L de GP, durante 96 h en agitación a 30ºC, mediante la técnica de cromatografía en capa delgada (TLC). Luego, para continuar con la caracterización de la capacidad de degradación de GP en función del tiempo, de las cepas elegidas por alcanzar la mayor eficiencia de degradación, se evaluó su crecimiento (DO 600 nm) y la degradación del herbicida durante 80 h. Por último, con el objetivo de buscar materiales capaces de mantener las bacterias viables durante más tiempo y crear un microambiente más favorable para la degradación del glifosato, se formaron bolitas de alginato que contenían cada una de las bacterias, se expusieron a agua natural estéril y no estéril suplementadas con 0,25 g/L GP, y se observó su capacidad de degradación al cabo de 96 h y 198 h. También se les evaluó su viabilidad celular dentro de las bolitas evaluando las ufc/mL/bolita en los tiempos señalados.

Resultados: Los resultados mostraron que las bacterias que degradaron más glifosato fueron: Rhizobium radiobacter (Rrad0), Achromobacter denitrificans(Aden0), Ochrobactrum haematophilum (Oha0), ya que el porcentaje remanente fue de 25 %, 40 % y 50 % respectivamente. De esta manera, para analizar el proceso de degradación por parte de estas cepas elegidas como las más eficientes, se realizaron curvas de degradación y crecimiento. En todos los casos, se observó que alcanzaron la mayor velocidad de degradación durante la fase exponencial de crecimiento. Con respecto a la degradación de las bacterias contenidas en las bolitas de alginato, todas las cepas analizadas, fueron capaces de degradar GP y de reproducirse conforme el paso del tiempo. También se observó que la degradación era mayor en aguas que no habían sido esterilizadas previamente, indicando que la carga bacteriana presente también estaría contribuyendo en el proceso.

Conclusiones: Estos resultados contribuirán al estudio de la degradación del glifosato por parte de bacterias autóctonas que puedan ser utilizadas en procesos de biorremediación ambiental.

CAM - Microbiología industrial

JU 120

0188 - CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS CON ACTIVIDAD ANTAGÓNICA FRENTE A HONGOS CAUSANTES DEL DETERIORO EN FRUTAS Y HORTALIZAS DE PRODUCCIÓN LOCAL

KHAWAM, Jorge | BENZZO, Maria Teresita | COMELLI, Raul Nicolas | SELUY, Lisandro Gabriel

DEPTO DE MEDIO AMBIENTE, FAC. ING. Y CS. HIDRICAS (FICH) - UNIV. NACIONAL DEL LITORAL (UNL)

Introducción y Objetivos: La demanda de productos hortícolas frescos es cada vez más exigente en lo que refiere a su inocuidad, como a su calidad sensorial y nutricional. Las temperaturas y precipitaciones en la región centro, predisponen al desarrollo de hongos del deterioro. Esto, sumado a las condiciones precarias de transporte y almacenaje,generan pérdidas en cantidad y calidad a lo largo de toda la cadena productiva, desde el campo hasta post cosecha, lo que representa mermas económicas para productores y comerciantes.En vistas de reducir los riesgos de contaminación microbiológica en los alimentos es necesaria buscar alternativas que permitan reemplazar al menos parcialmente las tecnologías basadas en la aplicación de productos de síntesis, que conducen a su vez a riesgos de contaminación química. Así, el control biológico surge como una de las opciones más promisorias, principalmente por su utilidad en etapas post cosecha, debido a que algunos grupos microbianos hacen de frutas y hortalizas su hábitat natural a la vez que actúan como biopreservantes y son considerados GRAS. Las Bacterias Lácticas (BL) se constituyen como un amplio grupo bacteriano que reúne las características mencionadas.El objeto de este trabajo fue caracterizar una selección de BL en cuanto a su actividad como biocontrol frente a diversos hongos del deterioro. Se estudiaron 18 aislamientos de frutas y hortalizas de diversos puntos del cinturón verde santafesino

Materiales y Métodos: Se evaluó el espectro de inhibición frente a un grupo de 8 hongos del deterioro; se confeccionaron curvas de crecimiento microbiano en reactores de 1 L a fines de evaluar los rendimientos de biomasa y el efecto de los metabolitos responsables del fenómeno inhibitorio mediante ensayos de antagonismo in vitrodel tipo medio envenenado con los sobrenadantes del medio de proliferación a diferentes tiempos de cultivo.Se estimó el índice fungistático de cada sobrenadante registrando los diámetros de las colonias fúngicasen relación a un control. En base a los parámetros obtenidos, se seleccionó un conjunto de 7 BL al que se procedió a identificar molecularmente mediante secuenciación del gen de la subunidad 16S de ARNr, previa amplificación por PCR.

Resultados: Para estos casos, se obtuvo una correlación entre la fase estacionaria tardía de crecimiento, el efecto sinérgico de pH y el efecto fungistático observado. Se comprobó que tanto el perfil de crecimiento como el rendimiento de metabolitos con actividad antifúngica fueron distintos para cada aislamiento, a la vez que las cepas de BL que exhibieron mayor actividad como biocontrol de hongos están filogenéticamente relacionadas con el género *Lactobacillus spp.*, de los cuales 5 pertenecieron a la especie*L. plantarum*, uno a la especie *L. crustorum* y el utlimo a la especie *L. brevis*.

JU 121

0259 - ESTABILIDAD EN LA CONSERVACIÓN POR CONGELAMIENTO, VIDA ÚTIL Y FUNCIONALIDAD TECNOLÓGICA DE UN FERMENTO LÁCTICO CAPAZ DE MEJORAR PANES SIN GLUTEN

PAULÓN, Flor Geraldina[1] | DE LA TORRE, María Adela Guadalupe[2] | QUIBERONI, Andrea[1] | OSELLA, Carlos Alberto[2] | **CAPRA, María Luján** [1]

INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL (INLAIN, UNL-CONICET) [1]; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, FACULTAD DE ING. QCA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]

Introducción y Objetivos: Pan preparado con una premezcla comercial sin TACC mejoró en textura, sabor y aroma por fermentación con *Weissella cibaria*W20, propagada en caldo MRS. En trabajos previos, se optimizó en fermentador de laboratorio la producción de W20 en medio de cultivo económico, sin TACC, en base a permeado de suero de quesería adicionado de sacarosa comercial (PSQS), logrando altos niveles de células viables en tiempo adecuado. La adopción de una tecnología para conservación de la biomasa debe considerar que, aún sin cambios en la viabilidad celular, algunos parámetros de funcionalidad de los cultivos pueden afectarse durante todo el proceso. El objetivo del estudio fue evaluar estabilidad y vida útil durante almacenamiento congelado del cultivo iniciador W20, y su funcionalidad tecnológica en elaboración de pan sin TACC.

Materiales y Métodos: La conservación de la biomasa cosechada, lavada y concentrada 10X se ensayó a 2 temperaturas (-20 y -80 °C) y 4 medios de suspensión: leche descremada estéril (LDE), PSQS, buffer fosfato 50 mM, pH 7(BF) y sobrenadante de fermentación con ajuste a pH 6,5 (SN). La viabilidad celular (VC) y la funcionalidad tecnológica (FT) de la biomasa crecida en PSQS se determinaron pre-congelamiento y, cada mes para todos los congelados (VC) o cada 3 meses solo para aquel -medio de suspensión y temperatura- en el que se obtuvo mayor VC (FT). La VC se determinó por recuentos microbiológicos en agar MRS y la FT, por desempeño del cultivo iniciador W20 en elaboraciones de pan sin TACC -observando capacidad para reproducir mejoras de textura y sensoriales ya demostradas. El pan control (PC) se preparó según el proveedor de la premezcla (solo fermentada con levadura) y los panes experimentales se fermentaron primero con W20 y luego con levadura, según se optimizó en un trabajo previo: PE1 con W20 propagada en MRS; PE2 con W20 propagada en PSQS en fermentador, y PE3 con W20 propagada en fermentador y congelada en la opción de conservación con mayor VC.

Resultados: A 7 h de fermentación se cosecharon $3{,}5.10^9$ UFC/ml y esa biomasa reprodujo en el PE2, como en PE1, mejoras de alveolado, volumen específico (Ve) y organolépticas en comparación con PC. A -80 °C la VC se mantuvo para todos los medios evaluados y a -20 °C cayó levemente para LDE y SN. A -20 °C PSQS disminuyó 1,9 y 2,4 órdenes log al 1er y 3er mes, respectivamente, mientras que BF conservó VC original por 6 meses. Por ser BF el medio más económico y -20 °C, temperatura disponible en la industria, se seleccionó ese congelado para elaborar los PE3. La FT luego de 3 y 6 meses a -20 °C en BF se mantuvo en comparación con el PE1 mostrando para ambos (PE1 y PE3) mayor Ve y más alveolos -más pequeños y con distribución regular, similar a pan de molde- respecto del PC. Además, la fermentación previa con W20 (PE1 y PE3) suavizó aroma y sabor del pan y eliminó gusto a almidones residuales; asemejándolos a "pan de campo".

Conclusiones: Los resultados indican que W20 se conserva en BF a -20 °C como cultivo iniciador al menos por 6 meses.

JU 122

0545 - ESTUDIO HISTOLÓGICO DE HOLLEJOS DE UVAS *VITIS VINIFERA* L. TRATADOS CON SISTEMAS MULTIENZIMÁTICOS MICROBIANOS

MARTÍN, María Carolina | AVENDAÑO, María Belén | LONGHI, Sara Jaquelina | VEGA, A. Gustavo | **MORATA DE AMBROSINI, Vilma Inés**

FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS A LA INDUSTRIA (UNCUYO)- CONICET

Introducción y Objetivos: Las pieles de uva representan cerca del 5-10% del peso seco de la baya de uva y sus células contienen compuestos de gran valor que determinan la calidad del vino, como son los pigmentos y los compuestos de aroma y sabor. El número de capas celulares de la epidermis de los hollejos de uva, el tamaño de las células, así como la composición química de la pared celular son específicas del cultivar. En particular las paredes celulares contienen un 30% de polisacáridos neutros (celulosa, xiloglucanos, xilanos, arabinanos, galactanos y mananos) y más de un 20% de componentes pécticos acídicos (62% esterificados), en peso seco. Al mismo tiempo, dicha pared celular constituye una barrera para la difusión de compuestos de interés enológico, como los responsables del aroma y color de los vinos. Su permeabilidad puede incrementarse por hidrólisis de sus polisacáridos estructurales por acción de enzimas exógenas de maceración. Por otra parte, existen pocos estudios previos que se enfoquen en el análisis histológico de los efectos de estas enzimas. El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio histológico de los hollejos de uvas *Vitis vinífera* cvv Malbec y Bonarda para analizar la localización y distribución de los compuestos fenólicos. Además, estudiar la influencia de sistemas multienzimáticos microbianos sobre las células ricas en antocianos de la epidermis de uva.

Materiales y Métodos: Las uvas se recolectaron de viñedos de la zona vitivinícola DOC San Rafael (Mendoza), las cuales fueron cosechadas en condiciones óptimas de madurez y mantenidas inmediatamente a 4ºC. El estudio histológico consistió en observaciones por microscópicas óptica de epicarpo de hollejos de uvas en fresco sin tratar (control) y tratados con sistemas multienzimáticos. Los tratamientos enzimáticos se llevaron a cabo macerando fracciones de hollejos de uvas, sin restos de pulpa, con 1 mL de extractos enzimáticos, incubados 6 h a temperatura ambiente. Las enzimas utilizadas fueron: una pectinasa comercial de uso enológico, y dos extractos multienzimáticos microbianos, ricos en pectinasas, producidos por levaduras autóctonas de la misma región vitivinícola, aisladas previamente por el grupo de trabajo.

Resultados: El análisis micrográfico permitió diferenciar tipos celulares en función de la distribución, tamaño y forma de las granulaciones de los compuestos fenólicos. Así, se observaron células con inclusiones esféricas pequeñas, células con coloración uniforme, y células con inclusiones grandes y redondeadas ocupando gran parte de la célula, además de células sin coloración. Diferencias significativas en la tipología de las células de epicarpo fueron observadas en los hollejos luego de los tratamientos enzimáticos. Estos mostraron una desorganización de las paredes celulares, con pérdida de las pectinas y un vaciamiento del contenido celular, especialmente de las vacuolas polifenólicas. Además, existieron diferencias histológicas significativas entre ambas variedades de uva estudiadas.

Conclusiones: Estas evidencias contribuyen a definir la mejor estrategia enzimática para la maceración prefermentativa.

JU 123

0503 - OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DEL EDULCORANTE XILITOL MEDIANTE FERMENTACIÓN DE LA LEVADURA *CANDIDA GUILLIERMONDII*

BAQUÉ, Jonathan | **NOSEDA, Diego**

IIBIO-UNSAM

Introducción y Objetivos: El xilitol es un edulcorante natural que ha alcanzado gran interés mundial debido a su elevado poder endulzante con bajo contenido calórico y por su capacidad de no ser fermentado por las bacterias de la boca, evitando la formación de caries. Asimismo, este alditol es utilizado como un sustituto de la sacarosa en alimentos para diabéticos por no requerir de insulina para su metabolismo. A nivel industrial el xilitol es producido mediante un costoso proceso de reducción química de la xilosa proveniente de madera. Por otro lado, la producción de xilitol mediante procesos fermentativos con microorganismos se presenta como una alternativa interesante. La levadura *Candida guilliermondii* es uno de los organismos que exhibe mayor nivel de producción de xilitol, debido a que posee elevada expresión de la enzima xilosa reductasa dependiente de NAD(P)H, encargada de convertir la xilosa en xilitol. El objetivo de este trabajo fue optimizar la producción del edulcorante xilitol mediante fermentación de la levadura *C. guilliermondii* FTI 20037, a partir de cultivos realizados en frascos Erlenmeyer y en bioreactor de tanque agitado.

Materiales y Métodos: La optimización del proceso de producción de xilitol se inició con cultivos de *C. guilliermondii* en frascos Erlenmeyer conteniendo medio rico YPD suplementado con xilosa (YPDX). Luego, la producción de xilitol en medio YPDX se realizó en bioreactor de tanque agitado de 6 L (New Brunswick BioFlo 110), mediante un proceso que incluyó una primera etapa de cultivo batch hasta el consumo total de glucosa y una posterior etapa de cultivo fed-batch alimentado con xilosa concentrada. A partir de estos cultivos se efectuaron las determinaciones del nivel de biomasa, cantidad de glucosa y xilosa consumida, y concentración del xilitol producido.

Resultados: A partir de los cultivos en Erlenmeyer se consiguió una concentración máxima de xilitol de 40,6 g/L, por lo que el rendimiento de xilitol en función de la xilosa consumida (Yp/s) fue 0,62 g/g y la productividad volumétrica máxima de xilitol (Pv) fue 0,63 g/L h. Mediante fermentación en bioreactor a pH 5,5 y una alimentación con 65 g de xilosa, se obtuvo un nivel máximo de xilitol de 64,7 g/L, un Yp/s de 0,65 g/g y una Pv máxima de 1,36 g/L h. Mientras que con la fermentación a pH 7 y una alimentación de 100 g de xilosa, la concentración máxima de xilitol alcanzada fue 76,4 g/L, el Yp/s fue 0,65 g/g y la Pv máxima fue 1,92 g/L h. Así, a partir de las fermentaciones en bioreactor se incrementó la cantidad de xilitol producido más de 1,6 veces y su productividad más de 2,2 veces, respecto a los cultivos en Erlenmeyer. Asimismo, mediante la fermentación a pH 7 se logró iniciar la producción de xilitol a tiempos más tempranos que con la fermentación a pH 5,5, por lo que su productividad aumento 1,4 veces.

Conclusiones: De este modo, mediante cultivos en frascos Erlenmeyer y fermentaciones en bioreactor de tanque agitado se logró optimizar la producción del edulcorante xilitol con la levadura *C. guilliermondii*.

JU 124

0436 - BIOPROSPECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ENZIMAS DEGRADADORAS DE LA PARED CELULAR VEGETAL DE PLANTAS EN EL MICROBIOMA INTESTINAL DE TERMITAS NATIVAS

ROMERO VICTORICA, Matías [1] | SORIA, Marcelo[2] | BATISTA-GARCÍA, Ramón[3] | CEJA-NAVARRO, Javier[4] | MARTÍNEZ, Liliana[3] | ONTAÑON, Ornella[1] | SILVINA, Ghio[1] | QUINTERO GARCÍA, Omar[3] | ETCHEVERRY, Clara[5] | CAMPOS, Eleonora[1] | ARNEODO, Joel[6] | TALIA, Paola[1]

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO). INTA-CONICET. [1]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA AGRICOLA, FACULTAD DE AGRONOMÍA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]; CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN DINÁMICA CELULAR, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MORELOS [3]; EARTH AND ENVIRONMENTAL SCIENCES, LAWRENCE BERKELEY NATIONAL LABORATORY [4]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES Y AGRIMENSURA. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [5]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA). INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA Y ZOOLOGÍA AGRÍCOLA [6]

Introducción y Objetivos: La capacidad de las termitas para degradar la biomasa vegetal recalcitrante las convierte en un modelo biológico ideal para varias aplicaciones biotecnológicas: industrias alimentaria, papelera, textil, biocombustibles, etc. Las termitas albergan microorganismos en sus cavidades intestinales, los cuales expresan enzimas que tienen la capacidad, junto con enzimas endógenas, de degradar completamente biomasa lignocelulósica en azúcares monoméricos y otros productos químicos simples. El objetivo del trabajo es prospectar, seleccionar, clonar, expresar y caracterizar genes codificantes para enzimas involucradas en la degradación de la lignocelulosa a partir del ADN total de la microbiota intestinal de *Cortaritermes fulviceps* y *Nasutitermes aquilinus*.

Materiales y Métodos: Individuos de termitas obreras de ambas especies fueron colectados en la provincia de Corrientes, Argentina. Los intestinos fueron disectados y agrupados, y se extrajo su ADN con un kit comercial. Las lecturas secuenciadas por Illumina HiSeq 2500 fueron ensambladas con el programa IDBA-UD. La anotación funcional se realizó con Prokka, y se utilizó dbCAN2 para la identificación de Enzimas Activas sobre Carbohidratos (CAZymes). Siete Glicosil Hidrolasas (GH) fueron seleccionadas (5 correspondientes a la familia GH10 y 2 a GH43), amplificadas y clonadas en pGEMT. Hasta el momento, dos de ellas (Xyl10E y Ara43B) fueron clonadas en pET28b, conteniendo un epítope 6xHis para su posterior purificación, expresadas en *Escherichia coli* y purificadas usando resina de níquel. La evaluación de la actividad xilanasa se realizó usando como sustrato xilano 0,5% y posterior cuantificación de los azúcares reductores mediante el método del ácido dinitrosalicílico y se establecieron los valores óptimos de pH y temperatura. Se realizó un modelado estructural por homología de la proteína Xyl10E usando el servidor I-TASSER.

Resultados: A partir de la secuenciación del ADN total se obtuvieron 52 Gb de lecturas, las cuales fueron ensambladas en 86.012 y 72.572 contigs para *C. fulviceps* y *N. aquilinus*, respectivamente. Con dbCAN2 se identificaron en total 585 y 1967 secuencias putativas de CAZymes, correspondientes a 117 y 160 familias diferentes, en el microbioma de *C. fulviceps* y *N. aquilinus*, respectivamente. La proteína Xyl10E presentó 49% de identidad con una GH10 de una bacteria no cultivable mediante BLASTP. La proteína recombinante presentó un peso molecular de 49,2 kDa., confirmado por SDS-PAGE. Xyl10E presentó una actividad xilanasa específica de 231,3 UI/mg, con un rango óptimo de pH entre 6 y 9, y a una temperatura de 50°C. Xyl10E presentó un modelo típico de GH10, barril TIM (β/α)8, con residuos catalíticos E180 y E314 conservados, y un motivo WP que podría jugar un rol importante en la interacción con el ligando.

Conclusiones: El estudio del sistema lignocelulolítico de termitas utilizando tecnologías metagenómicas podría ser una herramienta valiosa para reducir los altos costos en las biorrefinerías.

CAM - Microbiología veterinaria

JU 125

0120 - EFECTO DEL VIRUS DE LEUCOSIS BOVINA (BLV) EN CÉLULAS EPITELIALES MAMARIAS BOVINAS INFECTADAS IN VITRO

MARTINEZ CUESTA, Lucia [1] | NIETO FARIAS, Maria Victoria[2] | LENDEZ, Pamela[3] | SHEAHAN, Maureen[4] | ROWLAND, Raymond[5] | DOLCINI, Guillermina L[6]| CERIANI, Maria Carolina[6]

CIVETAN-CONICET, FCV-UNCPBA, CICPBA / COLLEGE VET MEDICINE, U OF KANSAS, USA [1]; CIVETAN-CONICET, FCV-UNCPBA, CICPBA [2]; AREA VIROLOGIA, FACULTAD DE VETERINARIA, UNCPBA [3]; COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, KANSAS STATE UNIVERSITY,MANHATTAN, KANSAS, USA [4]; COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, KANSAS STATE UNIVERSITY,MANHATTAN, KANSAS, USA [5]; AREA VIROLOGIA, FCV-UNCPBA, CIVETAN-CONICET, CICPBA [6]

Introducción y Objetivos: El virus de la leucosis bovina (BLV) es un Deltaretrovirus que infecta principalmente linfocitos B causando una enfermedad linfoproliferativa en el ganado bovino. El virus afecta la respuesta inmune de los animales infectados y previamente se ha demostrado que puede infectar células del epitelio mamario bovino. Estudios anteriores sugieren que los animales infectados con BLV podrían tener una mayor incidencia de mastitis. El objetivo de este trabajo es analizar el efecto de la infección por BLV sobre la viabilidad y la expresión de ARNm de uno de los receptores tipo Toll (TLR2) en el epitelio mamario bovino antes y después de la exposición in vitro a *S. aureus*, una de las bacterias que causa mastitis crónica en el ganado bovino.

Materiales y Métodos: La línea celular mamaria epitelial bovina MAC-T fue persistentemente infectada con BLV (MAC-T BLV). Para los experimentos de estimulación con bacterias, se utilizó una suspensión de *S. aureus* ATCC 29213 (OD = 0.3) inactivada por calor. La viabilidad de las células MAC-T y MAC-T BLV fue analizada por el método de MTT. Para el análisis de expresión de genes, la extracción de ARN se hizo con Direct-zol™ RNA MiniPrep Plus (Zymo Research, USA). La transcripción reversa se realizó con iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, California, USA) y la PCR en tiempo real se llevó a cabo usando la mix SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, California, USA) en el equipo de Applied Biosystems. Los datos se analizaron usando LingReg y FgStatisitcs.

Resultados: La infección por BLV reduce la viabilidad en un 27,85% comparado con las células no infectadas cuando se analiza por MTT. En presencia de *S. aureus*, la viabilidad de MAC-T BLV se reduce en un 15,38% a las 3 h, un 25,90% a las 6 h y un 26,46% a las 18 h en comparación con las células MAC-T. Las células epiteliales mamarias infectadas in vitro con BLV expresan 0,28 veces menos ARNm de TRL2 que el control MAC-T (p=0,01946); sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. La expresión de TLR2 está disminuida 0,28 veces (p=0,029) luego de 3 h de incubación con *S. aureus*, 0,24 veces (p=0,0428) luego de 6 h y 0,58 veces (p=0,0849) luego de 18 h.

Conclusiones: La infección por BLV reduce la viabilidad de las células epiteliales mamarias bovinas antes y después de la exposición a la bacteria *S. aureus*. El TLR2 es uno de los TLR más promiscuos respecto a la capacidad de reconocer patrones de patógenos, probablemente debido a que actúa en combinación con otros TLRs. La infección de las células epiteliales mamarias bovinas con BLV disminuye la expresión de ARNm de TLR2 cuando las células son expuestas a *S. aureus* previamente inactivado por calor. Esto, sumado a la disminución en la viabilidad celular, podría afectar la capacidad de reconocimiento de patógenos en la glándula mamaria y por lo tanto la respuesta inmune de la misma, favoreciendo el desarrollo de mastitis en animales infectados con BLV.

JU 126

0401 - DETECCIÓN DE GENES DE ENTEROTOXINAS CLÁSICAS EN STAPHYLOCOCCUS NO-AUREUS (NAS) AISLADOS DE LECHE BOVINA

CONESA, Agustín[1] | FESSIA, Aluminé Soledad[2] | ISAAC, Paula[1] | DIESER, Silvana Andrea[2] | BONETTO, César Celestino[3] | **PORPORATTO, Carina** [1] | RASPANTI, Claudia Gabriela[2]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE VILLA MARÍA (CONICET-UNVM), UNIV. NACIONAL VILLA MARÍA [1]; DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA. FAC. CS. EXACTAS FCO. QCA. Y NATURALES. UNIVERSIDAD NAC [2]; INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS, UNIVERSIDAD NACIONAL VILLA MARÍA [3]

Introducción y Objetivos: Los Staphylococcus no-aureus (NAS), anteriormente llamados Staphylococcus coagulasa negativos, son un grupo heterogéneo de un gran número de especies y subespecies. NAS son los microorganismos más frecuentemente aislados de la glándula mamaria de las vacas lecheras y cada vez son más reconocidos en todo el mundo como agentes etiológicos de las infecciones intramamarias en el ganado bovino. La patogenicidad de las especies de NAS está asociada con la presencia de distintos factores de virulencia, entre ellos, enterotoxinas estafilocócales (SEs). Estas toxinas son proteínas simples de bajo peso molecular, termoestables y resistentes a las enzimas proteolíticas, lo que les permite ejercer su actividad en el tracto gastrointestinal. Las SEs pertenecen a la familia de los superantígenos que estimulan inespecíficamente a las células T con liberación masiva de citoquinas inflamatorias y retraso en el establecimiento de la inmunidad

especifica del patógeno. El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de genes responsables de la producción de SEs en NAS aislados de vacas con mastitis subclínica.

Materiales y Métodos: El ADN de 96 aislamientos de NAS pertenecientes a las especies más prevalentes en tambos de la cuenca lechera del sureste de Córdoba, fue extraído para detectar por PCR la presencia de genes que codifican para cinco enterotoxinas clásicas (sea, seb, sec, sed y see).

Resultados: Los ensayos revelaron la presencia de genes de SEs en 75 cepas (78,1%), de las cuales el 33,3% (25/75) llevaban más de un gen de enterotoxina. El gen sea fue el más prevalente, estando presente en 47 cepas (48,9%), seguido por el gen sed (27,1%) y el gen sec (26%). Sólo dos cepas (2,1%) revelaron presencia del gen see mientras que el gen seb no fue detectado en ningún aislamiento. Todas las especies de SCN analizadas en este trabajo mostraron porcentajes similares y considerablemente altos de aislamientos portadores de genes relacionados a enterotoxinas, S. warneri (100,0%), S. chromogenes (81,6%), S. xylosus (73,3%) y S. haemolyticus (64,7%).

Conclusiones: El elevado porcentaje de cepas con potencial capacidad de producir enterotoxinas entre los aislamientos de NAS provenientes de tambos de una de las principales cuencas lecheras del país, representa un riesgo incipiente. Esta situación es una señal de alerta ya que la leche producida con recuentos bacterianos totales superiores a los niveles regulatorios, así como la carencia o insuficiencia de enfriamiento de la leche cruda, podría conllevar al crecimiento microbiano y a la producción de SEs en menor tiempo, poniendo en riesgo a la población que lo consume. Los resultados obtenidos en este estudio valorizan la importancia de estudiar el potencial toxigénico en este grupo bacteriano por su implicancia en la salud pública, dado que la termotolerancia de estas toxinas no afectaría su actividad cuando ya está presente en la leche que va a ser destinada a la elaboración de productos lácteos.

JU 127

0438 - AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS PROBIÓTICAS Y CELULOLÍTICAS PARA SU USO EN BOVINOS Y PORCINOS

MON, Maria Laura | SALUSTRI, Guido | LARZABAL, Mariano | ROMANO, María Laura | TALIA, Paola

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO). INTA-CONICET.

Introducción y Objetivos: Actualmente, los métodos modernos de crianza de bovinos y porcinos, en condiciones y dietas no naturales, pueden causar cambios en la composición de la microbiota, siendo susceptibles los animales a infecciones, principalmente gastrointestinales. El uso indebido y repetido de antibióticos tanto como promotores de crecimiento como para combatir enfermedades, además de eliminar a la flora beneficiosa, ha llevado a la resistencia bacteriana. En este contexto la utilización de microorganismos con características probióticas y celulolíticas como suplemento dietario se proponen como una alternativa para abordar los problemas mencionados anteriormente además de aumentar la digestibilidad. El objetivo de este trabajo es aislar y caracterizar bacterias ácido lácticas (BAL) con propiedades probióticas y celulolíticas a partir de bovinos y porcinos.

Materiales y Métodos: En este trabajo se aislaron y caracterizaron BAL a partir de leche colectada de rodeos lecheros de la provincia de Santa Fe, así como también a partir del alimento balanceado que se utiliza al momento del destete en criaderos de cerdos. Los aislamientos se realizaron utilizando medios selectivos para *Lactobacillus sp.*(MRS) y *Lactococcus sp.* (M17). La caracterización bioquímica de los aislamientos bacterianos se realizó mediante tinción de Gram, test de hemólisis, test de catalasa y oxidasa. Con el propósito de ensayar la resistencia a pH y sales biliares se realizaron curvas de crecimiento en distintas condiciones de acidez y sales biliares. Para la caracterización antimicrobiana *in vitro*, se utilizó una cepa de *Escherichia coli* enterohemorrágica O157:H7 (EHEC), la cual se incubó con los sobrenadantes de las BAL seleccionadas previamente. La actividad antimicrobiana se calculó en base a los cambios de densidad óptica a 600 nm luego de 24 h. Asimismo, se realizó la caracterización probiótica celulolítica *in vitro*, observándose la degradación del papel de filtro mediante la aparición de manchas, decoloración y/o descomposición. Para ello las bacterias se crecieron en medio líquido selectivo suplementado con una tira de papel de filtro a 37°C en agitación por una semana.

Resultados: En total se obtuvieron 39 aislamientos a partir de leche de los cuales 20 provenían del medio M17 y 19 del medio MRS. De todos los aislamientos Gram positivos. se observaron tres tipos de morfología: cocos, bacilos y cocobacilos. Para el test de catalasa se obtuvieron cuatro cepas positivas, para el test de oxidasa ninguna de las cepas caracterizadas resultó positiva, así como tampoco en el ensayo de hemólisis. En base a estos resultados se seleccionaron aquellos aislamientos Gram positivos, catalasa, oxidasa y hemólisis negativos. De los aislamientos seleccionados aquellos provenientes de MRS resultaron ser más resistentes a pH ácidos y a altas concentraciones de sales biliares. Las cepas resistentes resultaron ser 5 para MRS (47, 55, 58, 64 y 65) y 4 para M17 (43, 44, 45 y 46). En base a esta caracterización se seleccionaron los 5 aislamientos del medio MRS para el ensayo de actividad antimicrobiana contra EHEC O157:H7, de los cuales 3 (47, 55 y 64) presentaron un efecto inhibitorio del 40% de la cepa patógena. En cuanto a la actividad celulolítica, 2 cepas de M17 (28 y 30) presentaron degradación de papel de filtro, lo que indicaría una potencial actividad celulolítica.

Conclusiones: En este estudio se demostró que la leche de bovinos adultos sanos presenta bacterias con capacidad probiótica in vitro y celulolítica de potencial utilidad para mejorar la salud general del animal, restaurando la resistencia de los animales a las enfermedades, disminuyendo el uso de antibióticos y aumentando la digestibilidad del alimento.

JU 128

0478 - PATRON DE CLONALIDAD MEDIANTE ERIC-PCR EN CEPAS DE *SALMONELLA* GALLINARUM BIOVAR GALLINARUM AISLADAS EN GRANJAS CON BROTES DE TIFOSIS AVIAR DE ARGENTINA

SORIA, Mario Alberto [1] | GALLI, Lucia[2] | LONDERO, Alejandra[2] | BUENO, Dante Javier[1]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA, EEA-CONCEPCIÓN DEL URUGUAY [1]; IGEVET-CONICET (FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS UNLP-CONICET) [2]

Introducción y Objetivos: Las enterobacterias contienen secuencias cortas, repetidas y esparcidas, llamadas *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus* (ERIC), que han sido utilizadas ampliamente en la identificación de brotes infecciosos bacterianos. Usando estas secuencias ha sido posible discriminar serotipos estrechamente relacionados de la misma especie, y grupos de cepas no relacionadas clonalmente. La enterobacteria denominada *Salmonella* Gallinarum biovar Gallinarum (SG) produce la Tifosis aviar (TA), una enfermedad septicémica específica de aves adultas. Los brotes de TA usualmente comienzan con una fuerte disminución del consumo de alimento, y de la producción de huevos. Por otro lado, la tasa de mortalidad en la TA aguda es alta. El objetivo de este trabajo fue determinar mediante ERIC-PCR los patrones de clonalidad entre las cepas de SG aisladas en granjas con brotes de TA (GBTA) en Argentina.

Materiales y Métodos: Se realizó la técnica de ERIC-PCR en 198 cepas de SG aisladas de GBTA pertenecientes a las provincias de Entre Ríos (152, ER), Santa Fe (32, SF), Mendoza (6, M), Tucumán (4, T), Jujuy (2, J), Buenos Aires (1, BA) y la cepa vacunal 9R (CV). La extracción de ADN se realizó mediante Kit comercial. Los cebadores usados fueron ERIC1R (5´-ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C-3´) y ERIC2 (5´-AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G-3´). Los fragmentos amplificados se resolvieron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%. Los datos fueron analizados con el software BioNumerics 6.6 y el dendrograma fue construido utilizando el método UPGMA y coeficiente de similitud DICE.

Resultados: El dendrograma dio lugar a 32 patrones dentro de los cuales, 19 tuvieron 100% de similitud (clusters) y 13 patrones fueron únicos (PU). A la provincia de ER le correspondieron 6 clusters y a SF 14 clusters. Por otro lado, 67 cepas de SG (67/198) se agruparon en un único cluster las cuales se aislaron en diferentes años, y pertenecieron a las provincias de SF (2014), ER (2014-15-16), J (2016), T (2015) y BA (2015). La CV compartió el cluster con cepas de SG pertenecientes a las provincias de SF, ER y M. Con respecto a los PU, los mismos pertenecieron a las provincias de ER (7 cepas) y SF (6 cepas).

Conclusiones: En base a lo observado, se puede inferir que las cepas de SG son muy clonales debido a la gran cantidad de cepas que comprenden cada cluster. Además es importante observar que existen cepas de campo con el mismo patrón de bandas que la cepa vacunal 9 R. Por otro lado, existen los mismos clones circulantes de SG en varias provincias y en diferentes años, siendo clones persistentes en el tiempo. Si bien la técnica de ERIC-PCR permite realizar un análisis general de todos los aislamientos, se deberían corroborar estos resultados utilizando una técnica de subtipificación con mayor poder discriminatorio.

JU 129

0684 - *SALMONELLA ENTERICA* SEROVAR GALLINARUM: DIFERENCIACIÓN ENTRE CEPAS VACUNALES Y SALVAJES POR HRM-PCR

MOYANO, Damian[1] | KONIG, Guido[1] | CRAIG, María Isabel[2] | EIRIN, María Emilia[1] | MALENA, Rosana Claudia[3] | BUENO, Dante[4] | HUBERMAN, Yosef Daniel[3] | VELILLA, Alejandra[3] | CHACANA, Pablo[5] | **ZUMARRAGA, Martin** [1]

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO). INTA-CONICET. [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA); INSTITUTO DE VIROLOGIA E INCUINTA, CONICET [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA, ESTACION EXPERIMENTAL BALCARCE [3]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA, EEA-CONCEPCIÓN DEL URUGUAY [4]; INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA VETERINARIA, CICVYA (INTA-CONICET) [5]

Introducción y Objetivos: La tifosis aviar (TA) es una enfermedad aguda que afecta a las aves de corral y se caracteriza por producir septicemia, anemia, leucocitosis, hemorragias y muerte de aves de todo tipo y edad. Su *agente* etiológico es *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Gallinarum* biovar *Gallinarum* (*S. Gallinarum*). Infecta indistintamente a todas las categorías productivas de pollos y pavos. Las mayores tasas de mortalidad, se registran en pollitos de alrededor de dos semanas de vida pudiendo llegar al 100%. Una vez que las aves adquieren la infección pueden permanecen como portadoras durante toda su vida vida, requiriéndose eliminar a todas las aves enfermas para conseguir erradicar el patógeno de la granja. Existe una vacuna viva basada en la cepa atenuada 9R de *S. Gallinarum* (SG9R), que debido a su eventual patogenicidad remanente se

recomienda su administración no antes de la 4° semana de vida. Debido al uso inadecuado de esta vacuna como vacunación antes de lo indicado o administración en aves enfermas, en algunas ocasiones se generan dudas sobre el origen de la infección cuando se detectan aves vacunadas con signología de TA. A nivel genético se ha detectado que el gen rfaJ, que codifica la síntesis de lipopolisacáridos, tiene una mutación (TCA a TAA) en la cepa vacunal. Esta característica permite la diferenciación de las cepas salvajes de las vacunales a partir de la restricción diferencial de los productos de PCR. Por otra parte, el análisis de alta resolución de curvas de disociación (High Resolution Melting; HRM) de ADN es un método basado en PCR en tiempo real que permite detectar mutaciones puntuales al identificar cambios de nucleótidos que modifican la temperatura de hibridación (Tm) de hasta 0,1°C. El objetivo del trabajo fue desarrollar una HRM-PCR para diferenciar entre las cepas de *Salmonella Gallinarum* vacunales (9R) y las salvajes mediante HRM-PCR.

Materiales y Métodos: Se analizaron por duplicado 20 cepas, 5 vacunales de *S. Gallinarum* 9R y 15 salvajes. Se amplificó por PCR en tiempo real el gen rfaJ utilizando el kit MeltDoctor™ HRM Master Mix (Thermo Fisher Scientific) en un termociclador StepOnePlus (Thermo Fisher Scientific). Posteriormente se realizó el análisis de las curvas de disociación utilizando el software Applied Biosystems HRM.

Resultados: Se detectaron dos variantes que se diferenciaron por sus respectivos Tm (74 y 73°C) asociados con la mutación puntual C-A en el gen *rfaJ* en las cepas salvajes y vacunales respectivamente. Estos resultados son concordantes con los de un estudio previo realizado por los autores del trabajo en el que la diferenciación se realizó mediante PCR restricción.

Conclusiones: Se logró la diferenciación entre las cepas de *Salmonella* vacunales 9R y las salvajes mediante un método más rápido y preciso, que podría utilizarse tanto para el control de calidad de las vacunas como para determinar si la TA fue causada por una cepa salvaje o por la vacuna administrada en el caso que exista alguna duda sobre el origen del brote.

JU 130

0563 - INFLUENCIA DEL LOCUS DE ADHERENCIA Y AUTOAGREGACIÓN (LAA) DE CEPAS *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN LA ADHERENCIA A CÉLULAS HEP-2

VELEZ, María Victoria [1] | COLELLO, Rocio[1] | NIETO FARÍAS, Maria Victoria[1] | ETCHEVERRIA, Analia[1] | VIDAL, Roberto[2] | PADOLA, Nora Lia[1]

CIVETAN-CONICET, FCV-UNCPBA, CICPBA [1]; PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA Y MICOLOGÍA, INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS, FACULTAD DE MEDICINA, UC [2]

Introducción y Objetivos: Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es considerado un patógeno emergente transmitido por alimentos asociado a colitis hemorrágica (CH) y Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Dentro de STEC existe un grupo que coloniza y lesiona la mucosa intestinal debido a una isla de patogenicidad llamada Locus de borrado del enterocito (LEE). A partir de la presencia o ausencia de este locus se podría realizar una clasificación de STEC en LEE-positivas o LEE-negativas. Las cepas LEE-negativas no poseen los genes necesarios para producir lesión. Sin el locus LEE, las cepas deben adherirse al epitelio intestinal por otros mecanismos. Se ha determinado la existencia de una isla de patogenicidad denominada LAA que en ausencia de LEE, codifica genes que participan en la adhesión y autoagregación. Su marcador es el gen hes, que se encuentra en uno de los cuatro módulos que la componen y participaría en los mecanismos de patogenicidad. El objetivo de este trabajo fue estudiar la adherencia de cepas STEC LAA-positivas a la línea celular HEp-2.

Materiales y Métodos: Se trabajó con un total de 16 cepas STEC O91 de la cuales 14 fueron autóctonas LAA-positivas y dos mutantes, una O91 con la deleción de LAA y una HB101 con la inserción de un plásmido recombinante con el gen hes (HB101pvbhes). Cada cepa se incubó en caldo Luria Bertani (LB) (18 h, 37°C). Se trabajó con la línea celular HEp-2. Las células se cultivaron en placas de 24 pocillos. Posteriormente, se sembraron por duplicado 100 µ;l de una suspensión de cada cepa y se incubaron durante 3 h a 37°C en una atmósfera de 5% CO2. Para recuperar las células con las bacterias adheridas se agregó a cada pocillo 200 µ;l de Tripsina-EDTA y se incubó 10 minutos a 37°C. Se lavó 2 veces con 400 µ;l de PBS estéril y se recuperó todo el volumen del lavado que se sembró en placas de Agar Mc Conckey. Se realizó el recuento de UFC que indica el número de bacterias adheridas a las células HEp-2.

Resultados: Las cepas O91 LAA-positivas mostraron mayor número de bacterias adheridas a la línea celular, aunque con variaciones en el número entre cada aislamiento, que la mutante carente de LAA, y la cepa HB101pvbhes.

Conclusiones: Las diferencias individuales pueden deberse a la presencia de múltiples adhesinas, codificadas fuera de LAA. Estos resultados permitirían confirmar la función de adherencia de esta novel isla de patogenicidad LAA, de importancia en cepas carentes de LEE.

JU 131

0699 - RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y VIRULENCIA DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* AISLADO DE VACAS LECHERAS CON MASTITIS EN ARGENTINA

HERNANDEZ, Luciana[1] | BOTTINI, Enriqueta[2] | CACCIATO, Claudio[2] | MONTEAVARO, Cristina[2] | BUSTAMANTE, Ana[1] | **SANSO, Andrea Mariel** [1]

LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN- CONICET. FAC. DE CS. VETERINARIAS-UNCPBA. TANDIL [1]; LAB. DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL. FAC. DE CS. VETERINARIAS-UNCPBA. TANDIL [2]

Introducción y Objetivos: La mastitis es una de las enfermedades infecciosas más frecuentes en los rodeos lecheros y motivo del uso de antibióticos. La resistencia a estos es hoy una de las mayores amenazas, tanto para medicina humana como veterinaria. Uno de los patógenos asociados a mastitis bovina es *Streptococcus agalactiae*, cuya patogenicidad se ha relacionado con una serie de factores de virulencia, entre los cuales se encuentra el polisacárido capsular que es usado, además, para identificar 10 serotipos. Debido a que existen escasos datos sobre las cepas bovinas de *S. agalactiae* que circulan en Argentina, nuestro objetivo fue analizar la resistencia a distintas clases de antibióticos y los factores de virulencia de cepas aisladas de tambos.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 45 aislamientos bovinos de *S. agalactiae*, pertenecientes a 5 tambos. Los mismos fueron obtenidos de muestras de vacas lecheras con mastitis clínica o subclínica provenientes de 53 tambos ubicados en la cuenca de Mar y Sierras (Provincia de Buenos Aires), entre 2016 y 2019. La sensibilidad a 10 agentes antimicrobianos, penicilina (PEN), oxacilina (OXA), eritromicina (ERY), clindamicina (CLI), levofloxacina (LEV), norfloxacina (NOR), tetraciclina (TET), gentamicina (GEN), kanamicina (KAN) y pirlimicina (PIR), se determinó por difusión en discos (agar Mueller-Hinton con 5% de sangre bovina) y los resultados, en su mayoría, fueron interpretados de acuerdo con las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI) (2018). Esta información se complementó con datos de serotipos y perfiles de virulencia construidos en base a 13 genes asociados con adhesión, invasión, y/o evasión inmune.

Resultados: Se encontraron 2 perfiles de resistencia, KAN-resistentes o ERY-TET-CLI-PIR-KAN- resistentes. Se detectaron 6 perfiles de virulencia y 3 tipos capsulares, Ia, II y III. Todas las cepas tuvieron los genes spb1, hylB, los cuales codifican factores de adherencia, uno de los 3 genes que codifican para pilus, PI-2b, y cylE, codificante de una hemolisina, y el 95%, cpsA. El 60% presentó rib, el 20%, bca, y sólo un aislamiento, lmb, gen asociado a aislamientos humanos. La multirresistencia a 5 de los antibióticos ensayados se detectó en cepas perteneciente a uno de los tambos.

Conclusiones: Kanamicina es un aminoglucósido de uso veterinario que en conjunto con el ß-lactámico cefalexina se utiliza de forma intramamaria para el tratamiento de mastitis. El alto nivel de resistencia a kanamicina in vitro, detectado con discos de alta carga, alerta sobre la probable falla de sinergia entre este antimicrobiano y la cefalexina. Por otro lado, la ausencia de cepas resistentes a los betalactámicos ensayados refuerza la elección de estos antimicrobianos como primera opción para el tratamiento intramamario de *S. agalactiae*.

JU 132

0721 - IMPACTO DE LA CEPA *LACTOBACILLUS SALIVARIUS* DSPV010P ENCAPSULADA SOBRE LA MICROBIOTA DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE POLLOS PARRILLEROS

BERISVIL, Ayelén[1] | BUSTAMANTE, Pilar[2] | SIRINI, Noeli[1] | ROSSLER, Eugenia[1] | OLIVERO, Carolina[1] | ROMERO SCHARPEN, Analía[1] | **SIGNORINI, Marcelo**[3]

ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET) [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]; E.E.A - INTA RAFAELA / FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS - UNL [3]

Introducción y Objetivos: El uso de antibióticos en los animales de granja se ha desalentando debido al riesgo de residuos en los alimentos y la emergencia de cepas bacterianas resistentes con el potencial adverso sobre la salud de los consumidores. Los probióticos surgen como alternativa al empleo de antibióticos como promotores del crecimiento en la alimentación animal. Algunas bacterias ácido lácticas (BAL) son utilizadas como probióticos por tener la propiedad de regular la microbiota del tracto gastrointestinal. A su vez, la encapsulación del probiótico permite conservar su viabilidad hasta llegar al intestino y ejercer su efecto. El objetivo del trabajo fue determinar el impacto de *L. salivarius* DSPV010P encapsulada sobre la microbiota de pollos parrilleros.

Materiales y Métodos: Los animales se dividieron en 2 grupos de 280 cada uno: grupo control (GC) y grupo probiótico (GP). *L. salivarius* DSPV010P resistente a rifampicina (BAL+rif) (para su monitoreo) y encapsulada (con almidón pre-gelificado y permeado de suero de queso) fue suministrada diariamente durante los 42 d del

experimento en una dosis no menor a 1x109 UFC/pollo solamente al GP. Desde el inicio del ensayo y cada 7 d se realizó la necropsia de 4 animales por grupo y se recolectaron el buche, íleon y ciego para análisis microbiológicos. De cada uno se tomó 0,1 g para diluciones seriadas y siembra en placa en los medios específicos para cada una de las siguientes poblaciones: BAL+rif, BAL totales, Escherichia coli, Campylobactertermotolerantes y levaduras.

Resultados: En el GC no hubo crecimiento de *L. salivarius* DSPV010P en ninguno de los órganos. En cambio, en el GP se encontró en buche (4,30±1,18 Log UFC/g), íleon (3,1±0,91 Log UFC/g) y ciego (4,31±1,24 Log UFC/g) a lo largo de todo el ensayo. En buche, no hubo diferencias en el recuento de levaduras (P=0,446) y E. coli (P=0,109) entre grupos. Sin embargo, los recuentos de BAL fueron mayores en GP (8,25±0,071 Log UFC/g) en comparación con el GC (7,89±0,017 Log UFC/g) (P=0,012). En íleon, no hubo diferencias en el recuento de BAL (P=0,421) entre grupos. Sin embargo, los recuentos de levaduras fueron menores en GP (3,55±0,143 Log UFC/g) que en CG (4,072±0,143 Log UFC/g) (P=0,042). Lo mismo sucedió con los recuentos de E. coli (P=0,017), siendo menor el recuento en GP (5,17±0,157 Log UFC/g) que en GC (5,9±0,157 Log UFC/g). En ciego, no hubo diferencias en el recuento de BAL (P=0,283), levaduras (P=0,959) y E. coli (P=0,104) entre GC y GP. No hubo detección de Campylobacter termotolerantes en ninguno de los órganos de ambos grupos.

Conclusiones: La utilización de la cepa *L. salivarius* DSPV010P encapsulada influyó sobre la microbiota intestinal de los pollos parrilleros. En buche e íleon del GP hubo mayores recuentos de BAL totales y una disminución de levaduras y E. coli, respectivamente. *L. salivarius* DSPV010P puede modificar la microbiota del tracto gastrointestinal estimulando selectivamente el crecimiento de bacterias beneficiosas y suprimiendo el crecimiento de bacterias patógenas.

JU 133

0654 - FACTORES DE VIRULENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* Y SU RELACIÓN CON LA EDAD Y LA DIARREA EN TERNEROS DE RODEOS LECHEROS

CELI, Ana Beatriz | GARRO, Carlos Javier | VILTE, Daniel Alejandro

INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA VETERINARIA, CICVYA (INTA-CONICET)

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* es una bacteria comensal común de la microbiota gastrointestinal de los mamíferos. Pero, existen cepas que poseen factores de virulencia (FV) capaces de causar enfermedades. Los FV permiten agrupar las *E. coli* en distintos patotipos. El patotipo *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) está definida por un juego de FV, como la enterotoxina termoestable (STa) y las fimbrias F5 y F41. Este patotipo es uno de los causantes del síndrome diarreico neonatal bovino. Además, se han aislado de terneros con diarrea, cepas de *E. coli* que no son ETEC, sino que portan otros FV diferentes. El objetivo de este trabajo fue identificar FV de *E. coli* en muestras de materia fecal de terneros de la provincia de Buenos Aires y evaluar su asociación con la edad y la ocurrencia de diarrea.

Materiales y Métodos: Se colectaron muestras de materia fecal de 662 terneros de 35 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires. De cada rodeo se analizaron un promedio 18 ± 6 terneros, cuya edad fue categorizada por el valor de la mediana (22 días). Las muestras se clasificaron como diarreicas o no diarreicas y se cultivaron en agar MacConkey para aislar e identificar colonias de *E. coli*. Posteriormente, se sometieron a la detección de FV por PCR. Los FV analizados fueron: toxinas Shiga tipo 1 y 2 (stx1 y stx2), toxinas distensoras citoletales tipo 3 y 4 (cdtBIII y cdtBIV), factores citotóxicos necrotizantes tipo 1 y 2 (cnf1 y cnf2), enterotoxina termoestable (Sta), fimbrias S (sfa), P (papC), F17 (f17), F41 (f41) y F5 (f5), adhesina afimbrial Afa-E8 (afaEVIII), intimina (eae) y aerobactina (iucD). La potencial asociación entre la presencia de los factores de virulencia, la diarrea y la edad fue evaluada con el test Chi-cuadrado (significativo P<0,10).

Resultados: La proporción de positivos fue del 67% para iucD, 39% de papC, 32% de f17, 15% de cdtBIII, 14% de afaEVIII, 9% de eae, 4% de stx1, 2% de cnf1, 1% de stx2, 1% de Sta, 1% de cdtBIV, 0% de f41 y f5. Los factores de virulencia asociados a la presencia de diarrea fueron afaEVIII y sfa. Mientras que, los factores de virulencia asociados a la edad fueron afaEVIII, cdtBIII, cnf1, cnf2, f17, iucD, pap y stx1.

Conclusiones: Los FV aerobactina, fimbria P y fimbria F17 serían los más frecuentes en la región de estudio y su importancia debería ser evaluada. A la vez, la presencia iucD y pap serían indicadores de diarrea en los terneros estudiados. La fimbria P ya se ha encontrado en animales diarreicos, y constituye uno de los factores que portan algunos patotipos oportunistas. Por otra parte, hubo muy baja o nula detección de factores típicos de ETEC lo cual sugiere una presentación esporádica de este patotipo. La asociación de algunos FV con la edad de los animales sugiere que este último factor influiría en la frecuencia de los patotipos.

JU 134

0740 - DETECCIÓN DEL VIRUS DE ALAS DEFORMADAS EN APIARIOS DE LA PROVINCIA DE ENTRE RÍOS.

GONZALEZ, Fernanda Noemi [1] | RATICELLI, Fabricio[2] | STAUBER, Gabriela Maillén[3] | FERRUFINO, Cecilia Gabriela[1] | RODRIGUEZ, Graciela Adriana[4] | MIÑO, Orlando Samuel[1] | DUS SANTOS, María José[1]

INSTITUTO DE VIROLOGÍA E INNOVACIONES TECNOLÓGICAS. IVIT INTA-CONICET. [1]; LABORATORIO DE ESPECIALIDADES PRODUCTIVAS DE MACIÁ (LEPMA). [2]; LABORATORIO DE ESPECIALIDADES PRODUCTIVAS DE MACIÁ (LEPMA) [3]; INTA-E.E.A. HILARIO ASCASUBI. [4]

Introducción y Objetivos: La abeja melífera (Apis mellifera) comparte una relación histórica con los seres humanos y está altamente valorada por su importancia como polinizador. Entre los patógenos que afectan a las abejas, el virus de las alas deformadas (DWV) es unos de los más importantes por su alta prevalencia y por estar asociado, junto con el ectoparásito Varroa destructor, a la perdida de colmenas. El DWV pertenece a la familia Iflaviridae y se los clasifica en subtipos A y B. El DWV tiene la capacidad de replicar indistintamente en la abeja y el ácaro, siendo este último vector biológico de dichos virus. Dentro del grupo DWV pueden ocurrir recombinaciones entre los subtipos A y B, dando origen a variantes denominadas subtipo C. En Argentina, Buenos Aires y Entre Ríos son las provincias que albergan el mayor número de apiarios destinados a la producción de miel. Resultados previos mostraron una prevalencia del 73% de DWV en apiarios de Buenos Aires. Sin embargo, se desconoce la situación de este virus en Entre Ríos. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de DWV y de varroa en apiarios ubicados en Entre Ríos.

Materiales y Métodos: En septiembre 2018 (inicio de temporada) y abril 2019 (ingreso a la invernada) se realizó un muestreo de 153 colmenas pertenecientes a 27 apiarios. De cada colmena se procesó un grupo de 30-50 abejas nodrizas. Además, se procesaron 38 grupos de cría parasitada, 30 grupos de cría no parasitada y 35 grupos de varroas de las crías parasitadas. La detección del genoma viral se realizó mediante una RT-PCR de punto final utilizando cebadores específicos que permiten identificar cualquier variante del DWV (Pan-DWV) presente en las colmenas. Así mismo, en cada colmena se determinó el porcentaje de varroa forética (método del frasco) y el recuento esporular de Nosema sp usando una cámara de Neubauer.

Resultados: En septiembre de 2018, el 52% (34/65) de las colmenas fueron positivas para DWV y las muestras de abril de 2019 mostraron un 71,5% (63/88) de colmenas positivas. A nivel de apiario, el 85% (23/27) resultaron positivos para el DWV. Además, se detectó DWV en el 92% (35/38) de las muestras parasitadas y en el 97% (29/30) de las muestras de crías no parasitadas. Todos los grupos de varroa fueron positivos para el DWV. En los muestreos de septiembre y abril la presencia de varroa forética no superó el 3% en cada colmena y el recuento esporular de Nosema sp fue inferior a 200.000 esporas.

Conclusiones: Nuestros resultados constituyen el primer reporte de la circulación del virus de alas deformadas en la provincia de Entre Ríos, tanto en abejas adultas y sus crías, como en el ectoparásito Varroa destructor. Futuros estudios intentarán describir la presencia de recombinantes en los apiarios en estudio y el impacto que la infección por DWV ocasiona en las colmenas.

JU 135

0682 - DETECCIÓN DE *SALMONELLA* EN SANGRE DE AVES DE CORRAL

BUENO, Dante [1] | GODANO, Eduardo I.[2] | BARUCH, Daniel[3] | WAGNER, Juan Cruz[4] | LEIVA, Leonardo[5] | PASCAL, Diego C.[6] | SORIA, Mario A.[1]

EEA INTA CONCEPCIÓN DEL URUGUAY [1]; TECNOVO S.A. [2]; FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA [3]; BARON-WAGNER AVICULTURA [4]; GRUPO MOTTA [5]; FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, SEDE BASAVILBASO, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ENTRE RÍOS [6]

Introducción y Objetivos: Distintas Salmonelas pueden afectar a las aves. Dentro de ellas, *Salmonella enterica* serovariedad Gallinarum biovar Gallinarum (SG) produce la tifosis aviar, una enfermedad septicémica de gran importancia en las aves de corral. El índice de mortalidad de esta enfermedad puede alcanzar el 100%, y la transmisión vertical y horizontal complica su control. Un diagnóstico rápido o una detección previa a la presentación de los signos clínicos permiten tomar medidas más acertadas para disminuir los efectos negativos de la tifosis aviar. Una de las metodologías diagnósticas rápidas comúnmente utilizadas para identificar los reactores a campo es la aglutinación rápida en placa (ARP) de suero. Por otro lado, *Salmonella enterica* ser. Typhi (ST) y ser. Paratyphi (SPT) producen una enfermedad sistémica en el humano llamada fiebre tifoidea. La ST A y O sólo está presente en el ser humano, mientras que SPT A, B y C reside principalmente en las personas, pero puede estar presente en animales domésticos. Para su diagnóstico rápido se utiliza el test serológico de Widal (TSW). Sin embargo, no hay reportes de estas dos serovariedades en las aves. Por ello, los objetivos de este trabajo fueron estudiar la presencia de *Salmonella* spp. en la sangre (anticuerpos – Acs- de SG, ST y SP en suero y cultivo del coagulo) de aves de corral, y determinar la concordancia de los resultados obtenidos.

Materiales y Métodos: Se tomaron 2 ml de sangre de 700 aves de corral entre septiembre de 2016 a marzo de 2019. Se separó el suero del coágulo de cada muestra. Los sueros obtenidos fueron inactivados a 56°C durante 30 minutos para la detección de Acs de *Salmonella* a través de la técnica de ARP con reactivo que detecta Acs de SG. En el caso de resultado positivo, se diluyó el suero en relación 1/8 con solución fisiológica y se volvió a repetir la prueba para descartar Acs vacunales. Para la detección de Acs de ST (H y O) y SPT (A y B)

se utilizó el TSW. Para el aislamiento de *Salmonella* spp. del coágulo de sangre, se utilizó un preenriquecimiento, enriquecimiento selectivo, siembra en dos medios agarizados selectivos-diferenciales y caracterización bioquímica de los aislamientos. La concordancia fue calculada a través del coeficiente Kappa y la prueba de McNemar.

Resultados: El % de muestras positivas para *Salmonella* spp. en coagulo fue de 1%, aislándose sólo SG. Por otro lado, el 8,2%, 10,5%, 8,2%, 9,2%, 34%, y 7,3% de los sueros analizados fueron positivos para ST H, ST O, SPT A, SPT B, SG y SG diluido, respectivamente. La concordancia fue variable entre los resultados. Sin embargo, ésta fue nula entre los resultados obtenidos en el coágulo con los distintos tipos de Acs de Salmonella estudiados.

Conclusiones: Por todo ello, el cultivo del coágulo de sangre es una muestra no invasiva que puede agregarse a la técnica serológica en estudios de monitoreo de esta bacteria. La presencia de Acs de ST y SPT en las aves implica que hay que profundizar los estudios de estas dos serovariedades en las aves.

JU 136

0690 - ADMINISTRACIÓN DE CÁPSULAS PROBIÓTICAS A CERDOS EN RECRIA: COLONIZACIÓN INTESTINAL Y MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA

ZIMMERMANN, Jorge[1] | FUSARI, Marcia[2] | MARTÍ, Enrique[2] | **FRIZZO, Laureano Sebastián** [1] | STOPPANI, Constanza[3] | ROLDAN, Lorena[3] | SIRINI, Noeli[4] | SOTO, Lorena[1]

ICIVET LITORAL (UNL-CONICET) / FCV-UNL [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]; EEA INTA PERGAMINO [3]; ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET) [4]

Introducción y Objetivos: Las bacterias ácido lácticas (BAL) son componentes de la microbiota intestinal y algunas especies han demostrado tener propiedades probióticas a través de la modulación del sistema inmune, regulación de la microbiota intestinal y aumento en la performance de los animales. La cepa *Lactobacillus reuteri* DSPV 002C, ha demostrado tener capacidades probióticas en estudios in-vitro. La encapsulación es una técnica que se utiliza para mantener viable al probiótico durante su paso por el tracto gastrointestinal. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de *L. reuteri* DSPV 002C encapsulada para colonizar el intestino y modular la microbiota en cerdos de recría.

Materiales y Métodos: Para su monitoreo, se utilizó la cepa resistente a rifampicina. El experimento se realizó con 20 lechones destetados de 28±1 d de vida, los cuales se dividieron al azar en 2 grupos (grupo probiótico= GP y grupo control= GC) de 10 animales y fueron alimentados con una dieta comercial. El GP fue suplementado oralmente con el inóculo encapsulado (en gelatina y almidón) con una dosis diaria superior a 9,81 Log UFC/g/animal durante 42 d. Se obtuvieron muestras semanales de materia fecal de ambos grupos y se realizaron recuentos de poblaciones microbianas mediante diluciones seriadas y siembra en medios específicos para BAL, *Escherichia coli*, levaduras, *Campylobacter termotolerantes* y de la cepa probiótica en medio LAMVAB con rifampicina. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de medidas repetidas.

Resultados: *L. reuteri* DSPV 002C no se encontró en el muestreo inicial, previo al inicio de la suplementación, en ninguno de los grupos y en el GC en ninguna semana del ensayo. A partir de la inoculación se encontró la cepa en el GP durante todo el ensayo con recuentos mayores a los 4,3 Log UFC/g. Los recuentos de levaduras fueron mayores en GP (3,08±0,56 Log UFC/g) que en GC (2,43±0,39 Log UFC/g) en la última semana (P=0,044). También se encontraron diferencias en los recuentos de *E. coli.* Estos no pueden ser atribuíbles a la suplementación probiótica debido a que los recuentos de E.coli ya eran superiores (p=0,041) en el GP (8,4±0,50 Log UFC/g) en comparación al GC (7,48±0,81 Log UFC/g) antes de iniciar el ensayo. Los recuentos altos de E.coli (P=0,014) en el GP (5,53±0,78 Log UFC/g) continuaron en la semana 6 respecto del GC (3,81±1,17 Log UFC/g). Los recuentos de *Campylobacter* estuvieron entre 3,16 y 7,17 Log UFC/g sin diferencias entre grupos (p=0,585). Los recuentos de BAL fueron entre 7,56 y 8,58 Log UFC/g y no hubo diferencias (p=0,950) entre grupos.

Conclusiones: La presencia de *L. reuteri* en la materia fecal en los animales tratados evidenció la resistencia de la cepa encapsulada a las condiciones gastrointestinales, su llegada viable y en cantidades adecuadas a su sitio de acción para ejercer una modificación de la microbiota intestinal. Se propone continuar con la evaluación del efecto de esta modulación intestinal sobre la performance de crecimiento y parámetros sanitarios.

JU 137

0853 - PRODUCCIÓN DE BIOFILM Y CAPACIDAD DE INVASIÓN DE CEPAS DE *STREPTOCOCCUS UBERIS* AISLADAS DE MASTITIS BOVINA

MOLIVA, Melina | CAMPRA, Noelia | **REINOSO, Elina**

DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC)

Introducción y Objetivos: *Streptococcus uberis* es un reconocido patógeno ambiental causante de mastitis bovina. Se caracteriza por producir diferentes factores de virulencia que ayudan al establecimiento de la infección. La capacidad de producir biofilm, la adherencia bacteriana y la invasión a los tejidos mamarios del huésped son cruciales para la patogénesis de este agente.

Materiales y Métodos: Para el presente estudio se seleccionaron nueve cepas de *S. uberis* con diferente capacidad de producción de biofilm. Se realizaron ensayos de adherencia, internalización y supervivencia en células MAC-T. Se determinó la presencia de los genes involucrados en el proceso de adhesión gapC, hasABC, lbp, pauA y sua por PCR.

Resultados: Todas las cepas fueron capaces de adherirse e internalizar en las células MAC-T mostrando diferentes niveles de adhesión. La cepa UB56, que mostró el mayor porcentaje de internalización (2,84%), presentó un nivel moderado de adherencia (4,6 x 10^6) y la cepa UB152, que fue la más adherente (8,7 x 10^6), mostró una baja capacidad de internalización (0,65%). Asimismo, se realizaron ensayos de supervivencia intracelular a diferentes tiempos. Los resultados mostraron que ocho cepas pudieron persistir intracelularmente durante 96 h independientemente del nivel de adherencia o invasión. Una sola cepa (UB27) no fue capaz de sobrevivir. Las cepas ensayadas mostraron la presencia de los diferentes genes involucrados en el proceso de adhesión gapC, hasABC, lbp, pauA y sua, observándose seis patrones genéticos diferentes. El análisis de coordenadas principales mostró que las cepas pudieron dividirse en 2 grupos según la presencia de genes de virulencia y la capacidad de adherencia.

Conclusiones: Los resultados obtenidos muestran que las cepas de *S. uberis* fueron capaces de adherir e internalizar en células MAC-T. Los datos sugieren que la capacidad de formación de biofilm no influye en la capacidad de invasión de las cepas. Asimismo, la capacidad de adherencia e invasión parece ser cepa dependiente. El presente estudio proporciona nuevos conocimientos sobre la habilidad de S. uberis de producir biofilm e invadir células MAC-T. Los resultados podrán contribuir al desarrollo de estrategias de control para este importante patógeno ambiental.

JU 138

0743 - CINÉTICA DE INHIBICIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* K88 POR LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *LACTOBACILLUS* SPP.

ASURMENDI, Paula | **RUIZ, Francesca Sofia** | GARCÍA, María José | PASCUAL, Liliana | BARBERIS, Lucila

DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC)

Introducción y Objetivos: En la producción porcina uno de los principales desafíos es el control de las diarreas bacterianas post-destete, que ocasionan grandes pérdidas económicas en la actividad. Siendo F4 (K88) el serotipo de *E. coli* más frecuentemente aislado en estos procesos infecciosos. En los últimos años el estudio del biocontrol de microorganismos patógenos por especies de Lactobacillus resulta de mucho interés para el sector ganadero debido a la capacidad de los lactobacilos de sintetizar diversos compuestos antimicrobianos como ácidos, bacteriocinas, H_2O, entre otros. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad inhibitoria in vitro de *L. brevis* L52; *L. plantarum* L54 y *L. cellobiosus* L56 sobre *E. coli* F4 (K88).

Materiales y Métodos: En caldo MRS (90 ml) se inoculó 5 ml de una suspensión de *E. coli* K88 (1 x 10^5 UFC ml^{-1}) y 5 ml de una suspensión de lactobacilo (1 x 10^7 UFC ml^{-1}) e incubado a 37 °C. A distintos tiempos se determinó el recuento de células viables en agar EMB y MRS para *E. coli* y *Lactobacillus* spp., respectivamente. Y se calcularon los siguientes parámetros: máximo valor de UFC ml^{-1} alcanzado (Nmáx), velocidad de crecimiento máxima (μ máx) y tiempo de generación (G). Para los ensayos control, cada microorganismo fue evaluado por separado.

Resultados: *E. coli* F4(K88) en el control alcanzó el Nmáx a las 16 h de incubación con un valor promedio de 2 x 10^9 UFC ml^{-1}, la μmáx fue de 0,56 h^{-1}, con un tiempo G de 0,53 h. Cuando el microorganismo patógeno fue co-inoculado con las distintas cepas de lactobacilos se observó que aproximadamente a las 8 h de incubación E. coli alcanzó Nmáx con valores que oscilaron entre 4 x10^6 y 3 x 10^7 UFC ml^{-1}, lo que representa un porcentaje de inhibición en el rango de 19-29%. Destacando que las cepas *L. plantarum* L54 y *L. cellobiosus* L56 eliminaron totalmente a *E. coli* K88 del medio de cultivo a las 24 h de incubación, mientras que L52 lo hizo a las 36 h. Los valores de μ máx de *E. coli* en presencia de L52, L54 y L56 fueron de 0,5; 0,41 y 0,54 h^{-1}, respectivamente. Mientras que el parámetro G en co-cultivo fue incrementado con valores que oscilaron entre 0,6 y 0,74 h. Estos resultados indican que la presencia de lactobacilos disminuye los valores de velocidad de crecimiento de *E. coli* y aumenta el tiempo de multiplicación del microorganismo patógeno.

Conclusiones: En conclusión, los resultados obtenidos con las cepas de lactobacilos estudiadas son muy alentadores y futuros estudios son necesarios para la aplicación de estos microorganismos y/o sus metabolitos como estrategia de prevención y biocontrol de cepas de *E. coli* asociadas a diarreas postdestete.

JU 139

0898 - UTILIZACION DE CEFOTAXIMA Y CEFTAZIDIMA COMO SUSTITUTO DE CEFOVECINA EN LA INTERPRETACION DE ANTIBIOGRAMAS

NUSKE, Ezequiel [1] | RUMI, Maria Valeria[2] | MAS, Javier[2] | GUTKIND, Gabriel[1] | DI CONZA, Jose Alejandro[1]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA [1]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, MICROBIOLOGIA [2]

Introducción y Objetivos: La práctica clínica en animales de compañía presenta desafíos particulares y propios. La falta de adherencia al tratamiento, en ocasiones debido a la dificultad o imposibilidad de administrar un fármaco propicia tanto la falla terapéutica como la resistencia a antimicrobianos (RAM). En este contexto se desarrolló la cefovecina (CVN), una cefalosporina de tercera generación (CTG) para uso exclusivo en veterinaria que requiere una única administración cada 15 días. En nuestro país, dado su reciente ingreso al mercado, los laboratorios de diagnóstico aún no lo incluyen en el antibiograma de rutina. El objetivo de este trabajo fue evaluar en enterobacterias la sensibilidad de cefotaxima (CTX) y ceftazidima (CAZ) como sustitutos en la interpretación de CVN.

Materiales y Métodos: En este estudio se ensayaron 115 aislamientos de Enterobacterales previamente caracterizados provenientes de muestras clínicas de caninos y felinos. La sensibilidad se determinó mediante la técnica de difusión con disco según recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se emplearon discos de CTX (30 µg), CAZ (10 µg) y CVN (30 µg).

Resultados: Se determinaron 64/115 aislamientos resistentes a las CTG (22 portadoras de bla_{CTx-M}, 14 de bla_{CMY-2} y 28 aún no caracterizadas). Los restantes 51/115 fueron sensibles (S) a las CTG. Los valores de corte utilizados corresponden a los estándares CLSI 2019 para CTX y CAZ, y CLSI supplement VET08 2018 para CVN. Valores correspondientes a la categoría "Intermedio" fueron analizados como "Resistentes (R)". Al comparar la interpretación de CTX vs CVN (CTX/CVN), 45 cepas fueron S/S, 62 R/R, 2 R/S y 6 S/R, estimando el Valor Predictivo de Sensibilidad (VPS): 88,24% y el Valor Predictivo de Resistencia (VPR): 96,88%. Al utilizar los valores de corte con CAZ y CVN (CAZ/CVN): 47 fueron S/S, 51 R/R y 17 S/R, con un VPS: 73,44% y VPR: 100%. Al realizar la regresión lineal entre el halo de inhibición (mm) de CTX como predictor del halo de inhibición (mm) de CVN se obtuvo una pendiente de 0,78 (1 para equivalencia perfecta), $p<0,0001$, R2: 0,94. Al utilizar el halo de inhibición (mm) de CAZ se obtuvo una pendiente de 0,73, $p<0,0001$, R2: 0,89. Todas las cepas caracterizadas como portadoras de bla_{CTx-M} y bla_{CMY} resultaron resistentes a CVN.

Conclusiones: Es pertinente destacar el mayor poder predictivo de sensibilidad de CTX sobre CAZ (menores errores very major). En caso de no ensayarse CVN en el antibiograma, es factible utilizar los resultados de CTX y CAZ como predictor del comportamiento in-vitro de CVN.

JU 140

0929 - ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y SEGURIDAD DE CEPAS DE *BIFIDOBACTERIUM* AISLADAS DE AVES DE CORRAL

GRANDE, Sonia María Mercedes[1] | QUIROGA, María[1] | BERTANI, Milena Sabrina[1] | BABOT, Jaime Daniel[2] | **ARGAÑARAZ MARTINEZ, Fernando Eloy** [1] | PEREZ CHAIA, Adriana[2]

INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE BIOQUÍMICA, QUÍMICA Y FARMACIA. UNT [1]; CENTRO DE REFERENCIAS PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [2]

Introducción y Objetivos: La industria avícola en Argentina registra un crecimiento sostenido en los últimos años. Para mejorar la calidad y seguridad de los productos avícolas se utilizan estrategias como el uso de probióticos. Entre las cualidades estudiadas para la selección de nuevos microorganismos probióticos la capacidad de inhibir patógenos resulta de gran interés. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana, capacidad de coagregación con patógenos y sensibilidad a antibióticos de cepas del género Bifidobacterium aisladas de aves de corral.

Materiales y Métodos: Inicialmente se observó el efecto de sobrenadantes de cultivos de bifidobacterias sobre el crecimiento de cepas patógenas *Salmonella* Gallinarum, *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis y *Escherichia coli* ATCC35695. Las cepas *B. animalis sp. lactis* LET 401 (n=1) *B. thermacidophilum* subsp. *thermacidophilum* LET 406 (n=1), *B. thermophilum* LET 411 (n=1), *B. boum* LET 414 (n=2), *B. pullorum* LET

415 (n=1), *B. pseudolongum* subsp. *globosum* LET 402 y 403 (n=2), *B. pseudolongum* subsp. *pseudolongum* LET 404, 405, 407, 408, 409, 410 y 412 (n=7) fueron crecidas en caldo MRS adicionado con cisteína 0.05% (MRSc) durante 24 h a 37ºC. Los sobrenadantes de estos cultivos se filtraron y separaron en 2 alícuotas, una de ellas fue neutralizada a pH 7 con NaOH 1N y la otra no fue neutralizada. Los sobrenadantes neutralizados y no neutralizados fueron colocados en una microplaca de 96 pocillos e inoculados con una bacteria patógena (10^8 UFC/mL) cuyo crecimiento fue seguido leyendo DO560nm a 37 ° C durante 24 h. Como control de crecimiento los patógenos fueron inoculados en MRSc. Luego, la coagregación de bifidobacterias con patógenos fue evaluada de acuerdo a la variación de densidad óptica de una suspensión bacteriana en buffer fosfato salino durante 4 h en condiciones estáticas. Finalmente se analizó el perfil de resistencia antibiótica de las bifidobacterias por difusión en agar. El inóculo de las bifidobacterias se ajustó a 3.0x10 ^8 UFC/mL y al tubo N° 1 de la escala de Mc Farland, se sembró en MRSc agar por diseminación con hisopos y se colocaron los discos con antibióticos.

Resultados: En este estudio se pudo observar que todos los sobrenadantes de bifidobacterias no neutralizados impidieron el desarrollo de los patógenos ensayadas. Mientras que en el caso de los sobrenadantes neutralizados la inhibición de los patógenos fue cepa dependiente. Las cepas LET 411 y LET 413 presentaron los mayores porcentajes de coagregación con *E. coli* ATCC35695 de 17.88 ± 3.28 y 20.72 ± 0.83 %, respectivamente. El ensayo de sensibilidad a antibióticos demostró que en general las bifidobacterias estudiadas fueron sensibles a los antibióticos evaluados y algunas presentaron resistencia cepa dependiente a clindamicina, eritromicina y tetraciclina.

Conclusiones: En conclusión, las cepas de *Bifidobacterium* evaluadas en nuestro estudio mostraron características consideradas fundamentales para bacterias probióticas usadas como aditivos en avicultura.

JU 141

0776 - COMPUESTOS ANTI-BIOFILM PRODUCIDOS POR *BACILLUS* DE LA MICROBIOTA COMENSAL COMO POTENCIAL ESTRATEGIA TERAPÉUTICA FRENTE A INFECCIONES DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN BOVINOS LECHEROS

ISAAC, Paula[1] | ORELLANO, María Soledad[1] | BOHL, Luciana[1] | BRESER, María Laura[1] | CONESA, Agustín[1] | CALVINHO, Luis[2] | **PORPORATTO, Carina** [1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE VILLA MARÍA (CONICET-UNVM), UNIV. NACIONAL VILLA MARÍA [1]; E.E.A - INTA RAFAELA / FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS - UNL [2]

Introducción y Objetivos: La industria láctea es una de las actividades económicas más importantes de Argentina, ocupando el 17º lugar en producción de leche a nivel mundial. La mastitis es la patología más relevante en el ganado lechero y la que mayores pérdidas económicas ocasiona en el sector. *Staphylococcus aureus* es el patógeno más prevalente en animales con mastitis en nuestro país, con infecciones que inician con un episodio clínico o subclínico y suelen evolucionar hacia la cronicidad. La habilidad de *S. aureus* de formar biofilms en la glándula mamaria se considera uno de los mecanismos que determinan la gravedad de sus infecciones. Los problemas en salud pública asociados al mal uso de antibióticos en tambos y la persistencia de infecciones intramamarias, exigen una estrategia alternativa para el tratamiento de la mastitis en bovinos lecheros que considere la formación de biofilm como factor de virulencia. En los últimos años, se ha evidenciado la importancia de la microbiota en la salud de la glándula mamaria. Se introdujo el concepto de "microbiota comensal" en animales sanos y se propone que la enfermedad se asocia no sólo a patógenos individuales, sino a un desbalance en el microbioma. La importancia de la microbiota comensal impulsa la explotación de sus recursos para la obtención de biocompuestos terapéuticos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad de bacterias comensales de producir factores antibiofilm frente a cepas de *S. aureus* asociadas a mastitis.

Materiales y Métodos: Se realizó el aislamiento de bacterias comensales a partir de 45 muestras tomadas en un establecimiento lechero en la cuenca de Villa María. Se evaluó la actividad anti-biofilm de los aislamientos frente a cepas patógenas de *S. aureus*, se realizó una primera caracterización química de los biocompuestos responsables de la actividad y para proyectar su uso como fármaco anti-mastitis, se realizaron ensayos de citotoxicidad frente a líneas celulares bovinas.

Resultados: El aislamiento *Bacillus* sp. H21 se detectó en el 92% de los animales sanos. Los resultados mostraron que el *Bacillus* comensal reduce significativamente la adhesión bacteriana ($p<0,05$) del 85% de los biofilms patogénicos de *S. aureus* en porcentajes que alcanzan hasta un 100% de inhibición de la formación de biofilms y un 92% de erradicación de biofilms maduros. En una primera caracterización del biocompuesto de interés, se concluyó que *Bacillus* sp. H21 adjudica su actividad a una sustancia polisacarídica fuertemente adherida a membrana, termoresistente y dosis-dependiente. Las concentraciones activas del polímero no resultaron citotóxicas frente a macrófagos y células epiteliales mamarias y renales.

Conclusiones: Los resultados obtenidos confirman el potencial biotecnológico de *Bacillus* sp H21 para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas en mastitis bovina que contemple el biofilm como mecanismo de patogenicidad y se fundamente en el rol de la microbiota en el establecimiento y persistencia de una infección.

CAM - Parasitología clínica

JU 142

0278 - TOWARDS THE USE OF QUALITATIVE REAL TIME PCR AS A ROUTINE TOOL FOR NEGLECTED TROPICAL DISEASES: EVALUATION OF A COMMERCIAL KIT FOR DETECTION OF THE *TRYPANOSOMA CRUZI* DNA

BESUSCHIO, Susana Alicia [1] | WEHRENDT, Diana Patricia[1] | KUHN, Hans[2] | LONGHI, Silvia Andrea[1] | ROTTENGATTER, Karin[3] | SCHIJMAN, Alejandro Gabriel[1]

LAB. BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS - INGEBI- CONICET [1]; ALTONA DIAGNOSTICS ARGENTINA SRL [2]; ALTONA DIAGNOSTICS GMBH [3]

Introduction and objectives: Chagas Disease (CD) is a complex infection caused by *Trypanosoma cruzi*, a parasite with many Triatominae insects as vectors, diverse ways of transmission and stages, unspecific symptoms, long-term morbidity and more than 10000 deaths per year due to related complications, with only two available drugs for treatment. With an estimated 8 million people affected worldwide, this endemic disease in Latin America spread to other continents in the last decades. *T. cruzi* infection is curable if treatment is initiated soon after infection. In the chronic phase, antiparasitic treatment can also prevent or curb disease progression, (WHO Chagas Disease Factsheets, 2019); hence, research efforts focus in the early detection of the parasite with reliable and easy to use methods.

Materials and methods: The Limit of Detection (LOD) for this qualitative kit was determined following the CLSI approved guidelines. Artificial samples spiked with *T.cruzi* parasites of ClBrener strain at low concentration range were prepared with Guanidine-EDTA buffer and non- infected blood (GEB). DNA from 8 replicates from 4 samples was extracted everyday for 5 days and then qPCR was run for target DNA by triplicates. Statistics involved Probit analysis, excluding IC outliers with Tukey range test. The kit was also challenged with 20 clinical samples, from congenital, chronic and reactivated CD clinical groups were tested, plus a seronegative control group, as an index test. A validated real time multiplex satellite DNA qPCR method was chosen as a reference test (Duffy, T et al. PLOS NTD 2013 Vol. 7 Issue 1 e2000), that also includes an exogenous IC. Cohen Kappa index has been used to measure interrater reliability .

Results: The RealStar® Chagas detection kit and the reference test had shown comparable LODs (0.54 vs 0.7 p.e/mL) and Cohen Kappa index shows near perfect agreement between methods,

Conclusions: The results are good enough to further evaluation.

JU 143

0537 - DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE TOXOPLASMOSIS EN PACIENTES CON VIH-SIDA

NIGRO, Monica Gabriela [1] | CAMPOS, Patricia Karina[1] | VELAZQUEZ, Jorge[2] | LEDESMA, Bibiana[1]

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA, INEI, ANLIS " DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; HOSPITAL MUÑIZ [2]

Introducción y Objetivos: Toxoplasma gondii es un importante parásito zoonótico de distribución mundial, se estima que aproximadamente cerca de un tercio de la población humana está infectada, causando enfermedades graves en personas inmunocomprometidas, fetos y niños. En los pacientes con VIH-SIDA, la infección puede ser mortal en ausencia de profilaxis antibiótica, sin el oportuno diagnóstico y tratamiento representando una alta mortalidad y morbilidad. Siendo la toxoplasmosis cerebral la principal causa de lesiones neurológicas seguido por infecciones pulmonares. En la práctica clínica, se realiza un diagnóstico presuntivo que se basa en las características clínicas y radiológicas. El uso de métodos moleculares para el diagnóstico de la toxoplasmosis se ha introducido regularmente en la rutina del laboratorio por su mayor sensibilidad y especificidad. Siendo el gen B1 el más utilizado, tiene 35 copias repetida en tándem en el genoma en distintas cepas del parásito. El objetivo fue evaluar la utilidad del diagnóstico molecular en pacientes con VIH-SIDA.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 99 pacientes adultos con VIH-SIDA de sexo masculino con edades comprendidas entre 22 y 63 años, en el periodo de enero del 2014 a febrero del 2019, que se encontraban hospitalizados en División B VIH-SIDA, Hospital de Infecciosas "Dr. Francisco J. Muñiz". A cada paciente se le realizó la historia clínica, recuento de células CD4, y cuando fuera indicado estudios por imágenes, punción de líquido cefalorraquídeo (LCR), tomografía de tórax y lavado broncoalveolar (BAL). Se recibieron 109 muestras de sangre entera con anticoagulante, 7 BAL, 21 LCR, una biopsia cerebral en el Laboratorio Nacional de Referencia de la Toxoplasmosis del Departamento de Parasitología del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, para la realización de la técnica de la reacción de cadena de polimerasa (PCR) utilizando el gen B1.

Resultados: Los resultados de PCR obtenido de los pacientes en estudio fueron 64/99 (64.64%) No detectable y 35/99 (35.35%) Detectable de los cuales presentaron síntomas el 71.42% de los pacientes. El recuento de CD4 promedio fue 60 células/mm3. Con síntomas y/o signos neurológicos 17/35 casos con estudios por imágenes consistentes en tomografías y/o resonancia magnética de cerebro con lesiones ocupantes de cerebro o no y con respuesta al tratamiento anti-Toxoplasma gondii. De los cuales tuvieron resultados de PCR Detectable en sangre y LCR sólo en tres ellos. Uno de estos pacientes presentó una coinfección con Trypanosoma cruzi. Con clínica respiratoria 7/35 casos con manifestaciones clínicas o anormalidades en la radiografía de tórax y con resultados de PCR detectable en el BAL. Con compromiso ocular 1/35 pacientes.

Conclusiones: Estos hallazgos demuestran el valor clínico que tiene el uso de la técnica de PCR para el diagnóstico de Toxoplasmosis en pacientes con HIV-SIDA y más importante aún para la identificación de las otras formas clínicas que habitualmente son sub diagnosticadas.

JU 144

0572 - EVALUACIÓN DE MÉTODOS MOLECULARES PARA EL SEGUIMIENTO DE LA REACTIVACIÓN DE LA TOXOPLASMOSIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS INMUNOSUPRIMIDOS

CAMPOS, Patricia Karina [1] | NIGRO, Monica[1] | LEDESMA, Bibiana[1] | BATALLA, Marcelo[2] | URSO, Maria Dolores[2] | FIGUEROA, Carlos[2]

LABORATORIO DE TOXOPLASMOSIS. DPTO PARASITOLOGÍA. INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; HOSPITAL DE PEDIATRIA S.A.M.I.C. "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN" [2]

Introducción y Objetivos: Toxoplasma gondii (Tg) es un patógeno infeccioso oportunista que puede afectar a pacientes inmunocomprometidos tales como receptores de trasplante a quienes puede ocasionar la muerte. El diagnóstico molecular para toxoplasmosis (Txp) basado en PCR es esencial para la evaluación de infección. En nuestro país la disponibilidad de métodos moleculares comerciales es reducida, mientras que existe gran diversidad de métodos desarrollados in house. El Hospital Garrahan (HG) realiza el seguimiento pos trasplante de pacientes receptores de células progenitoras hematopoyéticas (HSCT) que se consideran en situación riesgosa según criterios clínicos. Nuestro laboratorio, que es Centro Nacional de Referencia para la Toxoplasmosis, realiza la vigilancia de estos pacientes a través del diagnóstico molecular. El protocolo se basa en el uso de PCR cualitativa que utiliza el gen B1 repetido 35 veces en el genoma de Tg. Actualmente el HG incorporó al seguimiento una PCR en Tiempo Real comercial (RT-PCR) que utiliza el gen Rep529 repetido 200/300 veces. La implementación de la RT-PCR permitiría cuantificar los resultados y realizar un monitoreo y evaluación más precisos de respuesta al tratamiento. Por tanto, el objetivo de este estudio es realizar un análisis comparativo de los resultados obtenidos mediante PCR y RT-PCR en muestras de pacientes pediátricos trasplantados con HSTC con signos o síntomas de Txp.

Materiales y Métodos: El HG deriva muestras de sangre anti coagulada a nuestro laboratorio, donde se realiza extracción de ADN y posterior PCR. El HG realiza la RT-PCR a partir de las mismas muestras. Los resultados se clasificaron según presencia (+) o ausencia (-) de ADN de Tg. Las muestras discordantes entre PCR y RT-PCR se analizaron por Nested PCR (NT-PCR) para el marcador molecular SAG3 (secuencia no repetitiva).

Resultados: Se procesaron 42 muestras y se obtuvieron los siguientes resultados: 33.3% (14/42) fueron (+) para PCR y RT-PCR, 23,8% (10/42) fueron (-) para ambos y el 42,9% (18/42) presentó resultados discordantes: 9/18 PCR(+)/RT-PCR(-) y 9/18 PCR(-)/RT-PCR(+). El análisis por NT-PCR permitió la resolución de las discrepancias y el reagrupamiento de los datos.

Conclusiones: La PCR permitió el diagnóstico y abordaje terapéutico de Txp en algunos casos, sin embargo tiene sus limitaciones. La implementación de RT-PCR debería significar una mejora en el diagnóstico debido al aporte de resultados cuantitativos y con mayor sensibilidad a causa del uso del gen Rep529. Los datos obtenidos presentan una alta tasa de discordantes (42,9%) lo cual sería esperable según las características descriptas para cada método. Sin embargo, al realizar el análisis por NT-PCR se observa que la PCR pudo identificar presencia o ausencia de ADN parasitario en el 59,5% (25/42) de los casos, y la RT-PCR en el 40,5% (17/42). Estos datos preliminares evidencian la necesidad de analizar un mayor número de muestras para poder realizar inferencias estadísticas respecto de la comparabilidad entre métodos.

JU 145

0728 - DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE *TOXOPLASMA GONDII* EN PACIENTES PEDIÁTRICOS TRASPLANTADOS

LEDESMA, Bibiana [1] | NIGRO, Monica Gabriela[1] | CAMPOS, Patricia Karina[1] | FIGUEROA, Carlos[2] | BATALLA, Marcelo[2] | URSO, Maria Dolores[2] | PARDINI, Lais[3] | VENTURINI, Cecilia[3]

LABORATORIO DE TOXOPLASMOSIS. DPTO PARASITOLOGÍA. INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; HOSPITAL DE PEDIATRÍA "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN" [2]; LABORATORIO DE INMUNOPARASITOLOGÍA-FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLAT [3]

Introducción y Objetivos: La Toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria, producida por el protozoo Toxoplasma gondii que puede afectar a mamíferos y aves, incluido el hombre. En humanos, la infección por este parásito es generalmente asintomática en pacientes inmunocompetentes sanos, sin embargo es causa de una morbilidad y mortalidad en niños con infección vertical y en pacientes inmunosuprimidos que sufren reactivación de una infección latente. La gravedad de la toxoplasmosis en el huésped está relacionada a diferentes factores entre ellos la variabilidad genética del huésped y del parásito. La estructura genética de T. gondii se determinó por el análisis de polimorfismo de distintos marcadores identificando inicialmente 3 linajes clonales de tipo I, II y III. Sin embargo, en América del sur se han descripto cepas con una mayor diversidad genética denominadas como atípicas o no clonales. En la Argentina, se han reportado cepas de *T. gondii* tipo II y "atípicas" a partir de placenta y sangre de cordón de casos de toxoplasmosis congénita. Dada la escasa información sobre los genotipos circulantes en seres humanos, los objetivos de este trabajo fueron realizar la identificación por PCR de *T. gondii* en pacientes pediátricos trasplantados y caracterizar molecularmente las muestras positivas.

Materiales y Métodos: En el periodo de los años 2016 al 2019 se realizó el seguimiento de 86 pacientes pediátricos, del servicio de trasplante de médula ósea del Hospital Garrahan. De estos pacientes, el Laboratorio Nacional de Referencia de Toxoplasmosis del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos G. Malbran, recibió muestras biológicas para la detección de ADN de *T. gondii* utilizando una PCR cualitativa, basada en la amplificación del gen B1 del parásito, que está repetido 35 veces en el genoma. Se realizó el estudio de caracterización genética por la técnica nPCR-RFLP.

Resultados: En quince pacientes con signos o síntomas compatibles con la enfermedad se detectó ADN del parásito por PCR en 8 muestras de sangre entera, una de biopsia de sistema nervioso, una de biopsia de médula ósea y cuatro de lavado broncoalveolar. Debido a la baja cantidad de ADN en la muestra original se realizó la caracterización molecular para el marcador SAG3 en 9 pacientes positivos obteniendo como resultado tipo I en 6 pacientes y tipo III en 3 pacientes.

Conclusiones: En nuestro país, se desconocen los genotipos de *T. gondii* circulantes en cualquiera de los grupos de riesgo de la enfermedad, por ello continuar investigando al respecto aportaría datos relevantes sobre el comportamiento epidemiológico de *T. gondii* y permitiría posteriormente realizar estudios genotipo-sintomatología con la evaluación de un posible pronóstico de la enfermedad desde sus etapas iniciales.

JU 146

0811 - ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA DE ENFERMEDAD DE CHAGAS-MAZZA EN RESIDENTES DEL CINTURÓN HORTÍCOLA PLATENSE

ORTEGA, Emanuel [1] | GOMEZ, Matias[2] | GIRARD BOSCH, Maria Cecilia[3] | BRAVIZ LOPEZ, María Eugenia[4] | GONZALEZ, Sandra[3] | SORIANO, María de Los Angeles[4] | GONZALEZ, Marisa[4] | RADMAN, Nilda[1]

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLP [1]; HOSPITAL INTERZONAL ESPECIALIZADO EN AGUDOS Y CRÓNICOS "SAN JUAN DE DIOS" [2]; LABORATORIO CENTRAL DEL HOSPITAL INTERZONAL DE AGUDOS ESPECIALIZADO EN PEDIATRÍA SOR MARÍA LUDOVICA [3]; LABORATORIO CENTRAL DEL HOSPITAL INTERZONAL ESPECIALIZADO EN AGUDOS Y CRÓNICOS "SAN JUAN DE DIOS" [4]

Introducción y Objetivos: La Enfermedad de Chagas-Mazza constituye un grave problema de salud en todo el continente americano. Está causada por *Trypanosoma cruzi*, protozoario transmitido, entre otras vías, porla vectorial, mediante insectos de la subfamilia *Triatominae*. El cinturón hortícola es una franja productiva, ubicada en el periurbano de la Ciudad de La Plata, abastece a más de 14 millones de personas del conurbano bonaerense y otras regiones del país con verduras frescas. La región es habitada por personas provenientes de áreas endémicas. Realizar vigilancia respecto a esta enfermedad, su vector y diversos hospedadores infectados sería fundamental a efectos de detectar probables casos autóctonos. El objetivo fue determinar la seroprevalencia de la Enfermedad de Chagas-Mazza en residentes de un área no endémica.

Materiales y Métodos: El cinturón hortícola de la Ciudad de La Plata (34º 8 S 57º 54 W) comprende la zona sur del Cinturón verde Bonaerense. El área fue seleccionada, por poseer población mixta procedente de regiones endémicas para esta enfermedad, allí residen y trabajan personas procedentes del norte de nuestro país y de la República de Bolivia. Sus viviendas carecen de la infraestructura habitacional mínima; son precarias, de madera y chapa, agua de bebida e higiene inadecuados y en algunos casos, ausencia de baños. Se realizaron talleres motivadores durante encuentros que habitualmente realizan los cooperativistas. Allí, se los invitó a realizarse la extracción sanguínea, previa firma de su consentimiento. Las muestras se trasladaron al laboratorio, separaron, alicuotaron y conservaron los sueros sanguíneos. El procesamiento serológico se realizó mediante las técnicas de Ensayo inmunoenzimático (ELISA) y hemaglutinación indirecta (HAI), en el Laboratorio Central del Hospital Interzonal Especializado en Agudos y Crónicos (H. I. A. y C.) "San Juan de Dios" para los adultos y mediante Quimioluminiscencia y ELISA en el Laboratorio Central del Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica" para niños.

Resultados: Se analizó un total de 83 muestras, 63 correspondieron a personas mayores de 18 años, y las 20 restantes fueron de niños. Del total, 24 personas (28.91%) fueron seropositivas. Los menores estudiados resultaron seronegativos. Analizando la variable sexo, dentro de la población mayor de edad, de un total de 63 personas 30 mujeres y 33 varones. Resultaron seropositivos 12 (19.04%) mujeres y 12 (19.04%) hombres. La totalidad de personas afectadas, fue derivada para su evaluaciòn y atenciòn clínica y cardiológica al (H. I. A y C) "San Juan de Dios".

Conclusiones: La seroprevalencia, hallada fue elevada. Sin embargo, fueron positivos sólo pacientes adultos. Niños, hijos de madres chagásicas, incluidas en este estudio fueron seronegativos. Sería necesario mantener vigilancia en el área de residencia de las personas analizadas a fin de evaluar la posible presencia de vectores y realizar estudios en caninos como bioindicadores.

JU 147

0937 - INFECCION PULMONAR POR *LOPHOMONAS SPP* EN UN PACIENTE INMUNOSUPRIMIDO CON LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA

BONIFACIO, Rocio | RINAUDO, Mariángel | BULFONI, Mariana

LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA SANATORIO BRITANICO

Introducción: *Lophomona spp* es un protozoo multiflagelado de forma redonda a ovoide, el cual habitualmente se encuentra en el tracto intestinal de algunos artrópodos como cucarachas y termitas, de presentación infrecuente a nivel mundial, pero que adquiere cada vez mayor interés, dado que afecta especialmente pacientes inmunosuprimidos. Este microorganismo se ha asociado a infecciones de las vías respiratorias como agente etiológico inicial o bien complicando alguna patología preexistente. Presentamos este reporte de un paciente con una leucemia linfocítica crónica como enfermedad de base.

Caso Clínico: Varón de 68 años que consulta por cuadro de cuatro días de evolución caracterizado por episodios de desorientación, cefalea leve, fiebre de 39°, deterioro del estado general con antecedentes de leucemia linfocítica crónica, diabetes insulino-dependiente y obesidad. Al examen físico se constata regular estado general, impresiona enfermo, con presión arterial 120/70 mmHg, frecuencia cardíaca de 100 latidos por minuto, frecuencia respiratoria de 22 por minuto y saturación de oxígeno 95 % aire ambiente. Tórax con buena mecánica respiratoria. Al momento del ingreso se solicita Laboratorio que muestra leucocitosis de 19.800/mm^3 con linfocitosis de 68%, proteína C reactiva de 21.32mg/lt e IgE de 5.17UI/ml. La radiografía de Tórax revela infiltrado intersticial difuso a predominio de campo pulmonar izquierdo con borramiento de senocostofrénico homolateral e hilios congestivos. La tomografía computarizada confirma consolidaciones bibasales afectando la totalidad de ambos lóbulos inferiores asociado a broncograma aéreo, derrame pleural leve bilateral y adenomegalias mediastinales. Dada la persistencia del cuadro febril y los infiltrados pulmonares se decide solicitar muestra respiratoria de Lavado Broncoalveolar para búsqueda de posibles agentes etiológicos.Se obtienen resultados negativos de Pneumocystis jiroveci, test de influenza A y B. De manera conjunta se realiza visualización en fresco de dicha muestra donde se observa de manera casual la presencia de organismos móviles unicelulares con un penacho de flagelos en un extremo, compatibles con Lophomonas spp. Se pide nueva muestra para confirmar la presencia de dicho protozoo siendo esta última también positiva. Se da aviso al servicio de Terapia Intensiva el cual decide iniciar tratamiento con metronidazol. A pesar del tratamiento instaurado el paciente continua febril persistente, con deterioro de la función renal, progresión del cuadro respiratorio, inestabilidad hemodinámica, falla multiorgánica que intercurre con paro cardiorespiratorio que no responde a maniobras de RCP luego de 22 días de su ingreso a UTI. Se desconoce el rol patogénico de este protozoo pero se estima que quistes viables podrían entrar al cuerpo por inhalación o ingestión del material contaminado con heces de cucarachas. Lophomonas spp. podría dañar el epitelio respiratorio dando las manifestaciones clínicas leves como tos, fiebre, disnea hasta insuficiencia respiratoria grave y estudios radiológicos que indiquen neumonía, absceso pulmonar, etc. El diagnóstico de laboratorio de Lophomonas spp se realiza observando las formas flagelares en frescos de las muestras respiratorias (lavado broncoalveolar, esputo, etc) con aumento de 400x observándose el protozoo de forma redonda u ovoide con múltiples flagelos en un extremo moviéndose de forma característica.

Conclusiones: La infección por *Lohomonas spp* es muy poco frecuente. Se suele encontrar causando patologías a nivel respiratorio en pacientes inmunocomprometidos. Aunque todavía no esta estudiado su rol patogénico, es importante su diagnóstico para iniciar la terapia correspondiente. Consideramos importante el análisis en fresco de las muestras respiratorias para detectar este tipo de microorganismo en pacientes inmunosuprimidos.

JU 148

0951 - TIPIFICACIÓN DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EN INDIVIDUOS CRÓNICAMENTE INFECTADOS DE UN HOSPITAL UNIVERSITARIO.

SOSA, David Ariel [1] | TOLEDANO, Analía[2] | MESTRE, Mariana[1] | FERNANDEZ TOSCANO, Mauro[3] | VELLICCE, Alejandra[3] | REY, Jorge[3] | REPETTO, Silvia[4] | ALBA SOTO, Catalina[4] | RODRIGUEZ FERMEPIN, Marcelo[1] | GALLO VAULET, Lucia[1]

UBA, FFYB, DEPTO. BIOQUÍMICA CLÍNICA, CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA [1]; UBA, FFYB, DEPTO. BIOQUÍMICA CLÍNICA, CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA [2]; UBA, HOSPITAL DE CLÍNICAS "JOSÉ DE SAN MARTÍN", DEPTO. HEMOTERAPIA E INMUNOHEMATOLOGIA [3]; UBA-FMED, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (IMPAM) CONICET [4]

Introducción y Objetivos: La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana es una zoonosis vectorial endémica en nuestro país causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). La enfermedad se extiende desde el sur de México hasta el sur de Chile y Argentina afectando a más de 10 millones de personas. *T. cruzi* se clasifica, según la presencia de marcadores moleculares y características biológicas, en 6 Unidades Discretas de Tipificación (UDT) designadas como TcI a TcVI, siendo TcI el más abundante y distribuido en el continente americano. Existen pocos estudios en nuestro país que identifiquen las UDTs circulantes y menos aún estudios que asocien las UDTs con las manifestaciones clínicas observadas en los pacientes. El objetivo de este trabajo fue la tipificación de las UDTs de *T. cruzi* detectadas en muestras biológicas de individuos crónicamente infectados atendidos en un hospital universitario.

Materiales y Métodos: Se incluyeron en este estudio muestras de sangre de individuos con enfermedad de Chagas, en los cuales se detectó ADN de *T. cruzi*mediante PCR en tiempo real. Para la purificación de ADN se utilizó un kit comercial según las instrucciones del fabricante (Roche Diagnostics GmbH, Alemania). La tipificación de *T. cruzi* se realizó utilizando el algoritmo propuesto por Burgos y col (2007) el cual se basa en la amplificación génica, mediante PCR semi- anidada, de secuencias de ADN dirigidas contra la región intergénica SL-IR y contra el dominio D7 del gen ADNr 24S alfa. Los productos de PCR fueron visualizados en gel de agarosa al 2%.

Resultados: Se estudiaron 18 muestras de sangre entera de pacientes adultos con enfermedad de Chagas: 10 muestras pertenecientes a donantes de sangre, 6 a pacientes inmunosuprimidos y 2 muestras a pacientes con patología cardíaca demostrada. Se pudo asignar el genotipo al 77,8% de las muestras (14/18). Los genotipos detectados fueron TcI 64,3% (9/14), TcV 21.4% (3/14) y TcVI 7.1% (1/14). Una muestra fue caracterizada como perteneciente al grupo Tc II/V/VI. En el subgrupo de los donantes de sangre se detectaron los genotipos TcI, TcV y TcVI.

Conclusiones: Se implementó con éxito el esquema propuesto por Burgos y col (2007) para la tipificación de *T. cruzi* en muestras biológicas de individuos con Enfermedad de Chagas.Los resultados obtenidos concuerdan con la epidemiologia descripta para las UDTs de *T. cruzi* en nuestra región ya que se obtuvo un 64,3% de TcI. Este estudio es el primero en nuestro país en asignar genotipos de *T. cruzi* en muestras de donantes de sangre. La imposibilidad de asignar un genotipo en algunas muestras puede deberse a la baja carga parasitaria circulante, a la degradación del material genético o una población heterogénea o a alguna variante genética poco conocida hasta el momento. El estudio de los genotipos de *T. cruzi* circulantes en nuestra área en estudio permitirá evaluar en un futuro la posible asociación de los genotipos con las manifestaciones clínicas observadas en la enfermedad.

CAM - Virología básica

JU 149

0124 - BÚSQUEDA DE ARBOVIRUS EN ECTOPARÁSITOS PROVENIENTES DE ROEDORES DE CHARATA, PROVINCIA DE CHACO

ERMINI, Federico[1] | MARTIN, María Laura[1] | SANCHEZ, Juliana[2] | GARCÍA, Jorge Braulio[1] | **GOENAGA, Silvina** [1] | LEVIS, Silvana Del Carmen[1]

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES VIRALES HUMANAS (INEVH) "DR. JULIO I. MAIZTEGUI" [1]; CENTRO DE BIOINVESTIGACIONES (CEBIO) [2]

Introducción y Objetivos: Los roedores son los mamíferos más diversos y de mayor distribución en el mundo. Tienen importancia en la salud humana dado que son reservorios de agentes zoonóticos. A su vez, son hospedadores de diversos ectoparásitos como pulgas, garrapatas y ácaros. En este estudio, el objetivo es evaluar la diversidad de ectoparásitos de roedores capturados en Chaco y la infección de diversos Arbovirus en los mismos con el fin de determinar su potencial rol como vectores.

Materiales y Métodos: Para ello, se obtuvieron muestras de ectoparásitos de cada roedor mediante cepillado; seguidamente fueron agrupados en pooles de acuerdo a su clasificación taxonómica. Para la detección de los agentes virales se realizó la extracción del ARN viral mediante Trizol, y se efectuó la reacción en cadena de la polimerasa modalidad anidada, tras una retrotranscripción (RT-Nested-PCR) para la detección genérica de Flavivirus y Alfavirus.

Resultados: Se obtuvieron muestras de ectoparásitos a partir de 38 ejemplares de Calomys sp., 24 de Akodon sp., 6 de Mus musculus, 6 de Necromys benefactus y un solo ejemplar de Oligorizomys sp. Se colectaron un total de 6 pulgas (Craneopsyla minerva), 134 ejemplares de ácaros del género Ornithonysus sp., 399 ejemplares de ácaros de la familia Lelapidae, y 22 larvas de Amblyoma sp. Hasta el momento, sólo se analizaron por RT-PCR los pooles correspondientes a los ácaros (26 pooles) y no se pudo detectar la presencia de Alfavirus y Flavivirus mediante la metodología efectuada.

Conclusiones: Estos resultados aportan información sobre la diversidad de ectoparásitos en la región, y en rol potencial como vectores de los mismos en ciclos biológicos de Arbovirus. Además, resultan de importancia para la vigilancia desde el punto de vista eco-epidemiológico.

JU 150

0601 - EFECTO DE MODULADORES DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN CELULAR P38 SOBRE LA MULTIPLICACIÓN DEL VIRUS JUNÍN EN CULTIVOS CELULARES

BRUNETTI, Jesús Emanuel [1] | SCOLARO, Luis Alberto[2] | CASTILLA, Viviana[3]

LAB. VIROLOGÍA, DEPTO. QUÍMICA BIOLÓGICA, FAC. CS. EXACTAS Y NATURALES, UBA [1]; LAB. VIROLOGÍA, DEPTO. QUÍMICA BIOLÓGICA. FAC. CS. EXACTAS Y NATURALES, UBA. IQUIBICEN (CONICET) [2]; LAB. VIROLOGÍA, DEPTO. QUÍMICA BIOLÓGICA, FAC. CS. EXACTAS Y NATURALES, UBA [3]

Introducción y Objetivos: La vía de señalización celular p38, que forma parte de las rutas de transducción de señales dependientes de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAP quinasas), está involucrada en la replicación de diversos virus. En trabajos previos comprobamos que el arenavirus Junín (JUNV), agente causal de la fiebre hemorrágica argentina, induce la activación de p38 en células Vero y demostramos que el compuesto SB203580, inhibidor específico de la vía, reduce el rendimiento viral y la expresión de proteína viral en esta línea celular. El objetivo de este trabajo fue examinar el estado de activación de p38 en las líneas celulares humanas HeLa y HEK293 y evaluar el efecto de moduladores de p38, el compuesto SB202190 (inhibidor de la vía) y la anisomicina (activador de la vía) sobre la multiplicación de JUNV en células Vero, HeLa y HEK293.

Materiales y Métodos: La citotoxicidad de los compuestos a ensayar se examinó por el método del MTT. Para determinar el efecto de los moduladores sobre la multiplicación viral las células se infectaron con JUNV (MOI = 1) y se trataron con cada compuesto durante 24 h. A este tiempo se cuantificó el título de virus liberado al sobrenadante por el método de formación de placas. Por otra parte, la expresión de proteína viral de nucleocápside (N) se analizó mediante ensayos de inmunofluorescencia y western blot. Los niveles de p38 fosforilada (P-p38) en células sin infectar o infectadas, tratadas o no con los moduladores, se determinaron por western blot.

Resultados: Se comprobó que, a diferencia de lo observado en las células Vero, la infección con JUNV no indujo un incremento en los niveles de P-p38 en las células HeLa y HEK293. Sin embargo, la presencia de concentraciones no citotóxicas de SB202190 inhibió de manera significativa la producción de virus observándose, en la máxima concentración de compuesto ensayada, una reducción del 99,57%, 90,70% y 90,72% del título viral en células Vero, HeLa y HEK293, respectivamente. Asimismo, el tratamiento con el inhibidor también provocó una marcada disminución de la expresión de la proteína viral N en las tres líneas celulares utilizadas. El análisis por western blot permitió corroborar que la inhibición de la multiplicación viral estaba asociada a una disminución en los niveles de activación de la vía p38. Por otro lado, el tratamiento con el compuesto anisomicina no afectó de manera significativa ni el rendimiento viral ni la expresión de la proteína viral N.

Conclusiones: En conclusión, si bien la inducción de la vía p38 mediada por JUNV es dependiente del tipo celular, tanto en las células Vero como en las células de origen humano la inhibición de la vía reduce de forma notoria la multiplicación de JUNV. Por el contrario, la activación de la cascada de señalización no tiene efecto sobre la producción viral. Estos resultados sugieren que los niveles basales de activación de la vía serían suficientes para promover la multiplicación de JUNV.

JU 151

0613 - LA FUNCIONALIDAD Y EL FENOTIPO DE LA RESPUESTA T CD8+ SE CORRELACIONA CON EL TAMAÑO DEL RESERVORIO VIRAL EN INDIVIDUOS VIH+

CZERNIKIER, Alejandro | SALIDO, Jimena | TRIFONE, César Arielk | GHIGLIONE, Yanina

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS EN RETROVIRUS Y SIDA (INBIRS)

Introducción y Objetivos: La persistencia de los linfocitos T CD4+ latentemente infectados sigue siendo un obstáculo en la cura de la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Múltiples mecanismos

podrían estar involucrados en el establecimiento y mantenimiento de estas poblaciones celulares que constituyen el "reservorio viral". Últimamente, se ha puesto gran énfasis en el estudio de aquellas características de la respuesta de linfocitos T CD8+ (LTCD8+) VIH-específica asociadas al control viral. Objetivo: Evaluar la relación entre la calidad de la respuesta inmune previa al inicio del tratamiento antirretroviral (TARV) y al año y medio post-TARV con el tamaño del reservorio viral.

Materiales y Métodos: 19 individuos VIH+ fueron reclutados durante la infección aguda/temprana. Se obtuvo una muestra de sangre periférica previa al inicio del TARV (pre-TARV) y otra a los 19 meses luego del inicio del TARV (post-TARV). Se evaluó la funcionalidad (producción de citoquinas y degranulación) y el fenotipo (subpoblaciones de memoria y expresión de PD-1) de los LTCD8+ totales y VIH-específicos por citometría de flujo en las muestras pre- y post-TARV. Se cuantificó el ADN viral total (ADNt), integrado (ADNi), el ARN que no sufre splicing (US-ARN) y el que sufre splicing múltiple (MS-ARN) asociado a células por PCR en tiempo real en la muestra post-TARV. Los datos fueron analizados por métodos no paramétricos.

Resultados: El análisis mostró una correlación inversa entre los niveles de ADNi con la expresión pre-TARV del marcador de degranulación CD107 y el %LTCD8+ efectores terminales VIH-específicos (r=-0,776; p=0,001 y r=-0,504 y p=0,049; respectivamente). Asimismo, los niveles de ADNt se correlacionaron positivamente con el %LTCD8+/PD1+VIH-específicos; %LTCD8+/PD1+ naïve y %LTCD8+/PD1+ efectores terminales (r=0,523, p= 0,006; r=0,716, p=< 0,0001 y r=0,521, p=0,009; respectivamente). También se encontraron relaciones positivas entre el %LTCD8/PD1+ stem cell con el nivel de MS-ARN (r=0,433, p=0,027). A su vez, la relación entre US-ARN y ADNi se asoció negativamente con el %LTCD8+ MIP-1ß+ y con el %LTCD8+ naïve(r=-0,744, p=0,001 y r=-0,622, p=0,015). En la muestra post-TARV se observó una correlación inversa entre el ADNi y el %LTCD8+/bi- y tri-funcionales (r=-0,857, p=0,024 y r=-0,786, p=0,048). Además, se observaron correlaciones positivas entre el ADNi y el %LTCD8+ memoria efectora tanto en el compartimento total (r=0,684, p= 0,005) como específico (r=0,827, p=0,003). En línea con estos resultados, el ADNi se correlacionó negativamente con %LTCD8+ efectores terminales en los mismos dos compartimentos (r=-0,598, p=0,016 y r=-0,819, p=0,003).

Conclusiones: Se observó una relación entre los parámetros inmunes (pre y post-TARV) y la persistencia viral. En conjunto, esta evidencia apunta a que una respuesta inmune con menor funcionalidad, inclusive antes del inicio del TARV, y con un fenotipo agotado se asocia con un mayor tamaño del reservorio viral al año y medio post-TARV. Estos resultados aportan datos relevantes para el desarrollo de estrategias de cura funcional.

JU 152

0697 - ACTIVIDAD ANTIVIRAL E INMUNOMODULADORA DE TERPENOS FUSIONADOS SINTÉTICOS

PETRERA, Erina [1] | BATTINI, Leandro[1] | PERTINO, Mariano Walter[2] | SCHMEDA-HIRSCHMANN, Guillermo[3] | ALCHÉ, Laura Edith[1]

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UBA [1]; INSTITUTO DE QUÍMICA DE RECURSOS NATURALES. UNIVERSIDAD DE TALCA [2]; INSTITUTO DE QUÍMICA DE RECURSOS NATURALES. UNIVERSIDAD DE TALCA [3]

Introducción y Objetivos: Los terpenos son metabolitos secundarios que se producen en diferentes tejidos vegetales y presentan variadas actividades biológicas. Algunos de ellos han mostrado notables efectos antivirales y citotóxicos. En nuestro laboratorio de Virología abordamos la búsqueda de nuevas moléculas antivirales naturales y/o de síntesis química y previamente reportamos que los terpenos: jatrofolona natural 2A, la jatrofolona semi-sintética 5B y el derivado 9C del ácido carnósico presentan una potente actividad antiviral contra HSV-1 y AdV5. Considerando la urgencia por encontrar nuevas moléculas con actividad antiviral, nos propusimos estudiar la actividad antiviral e inmunomoduladora de terpenos fusionados.

Materiales y Métodos: Estas moléculas híbridas se sintetizaron mediante reacciones de click chemistry entre el diterpeno ácido imbricatólico y varios terpenos, incluido el dehidroabietinol ciperenoico, el ácido carnósico, gama lactona, el ferruginol, el ácido aleuritólico y el ácido oleanólico. Los compuestos obtenidos se numeraron del 1 al 16. Primeramente, se determinó la citotoxicidad de todos los compuestos en diferentes líneas celulares (Vero, HEp-2, C6, Raw 264.7 y A549) utilizando el método del MTT. De los 16 compuestos evaluados únicamente el 1, 2, 3 y 7 tuvieron moderada citotoxicidad, los demás presentaron CC_{50} mayores a 1000 µM. Para estudiar la actividad antiviral in vitro, evaluamos la acción de los compuestos contra distintos virus usando el método de punto final. Determinando la acción citopática producida por los virus y la inhibición causada por los compuestos se establecieron los valores de CE_{50} e IS para cada uno de los terpenos ensayados.

Resultados: La actividad antiviral de los compuestos contra herpes simplex se testeó en células Vero. Los compuestos 4, 5, 6 y 8 presentaron actividad antiviral tanto contra la cepa wt KOS del HSV-1 como contra las cepas TK- Field y B2006, obteniéndose valores de CE_{50} de 90 µM aproximadamente e IS mayores a 10. Los datos obtenidos al evaluar los compuestos contra la infección de Adenovirus 5 en células A549 indican que los más activos son: 5, 6, 8, 9, 10, 11 y 12 presentando IS mayores a 35. Contrariamente a lo esperado debido a los resultados obtenidos contra herpes y adenovirus, resultados preliminares indican que los compuestos no presentarían actividad antiviral contra el virus respiratorio sincicial humano evaluado en células HEp-2, donde la

inhibición de la replicación no es tan marcada. Respecto a la actividad inmunomoduladora, evaluamos la producción de TNF, IL-6 e IL-10 en macrófagos murinos inducidos con LPS. Encontramos que de los 16 compuestos ensayados, el 2, 4 y 6 presentan un perfil antiinflamatorio, mientras que los demás son proinflamatorios.

Conclusiones: Los resultados indican que la mayoría de los terpenos fusionados presentan actividad antiviral mientras que el perfil inmunomodulador varía. El análisis químico de las moléculas nos permitirá diseñar compuestos nuevos con alto IS y actividad inmunomoduladora.

JU 153

0738 - CINÉTICA DE TRANSCRIPTOS DE GENES INMEDIATOS Y TARDÍOS DEL VIRUS DEL HERPES BOVINO TIPO 4 (BOHV-4) EN CULTIVOS PRIMARIOS DE ENDOMETRIO BOVINO

ROMEO, Florencia [1] | LOUGE URIARTE, Enrique Leopoldo[2] | PEREYRA, Susana Beatriz[2] | SPETTER, Maximiliano[3] | GONZÁLEZ ALTAMIRANDA, Erika Analía[4] | ODEÓN, Anselmo Carlos[5] | PEREZ, Sandra Elizabeth[6] | VERNA, Andrea Elizabeth[7]

AGENCIA NACIONAL DE PROMOCIÓN CIENTÍFICA Y TÉCNOLÓGICA (ANPCYT) [1]; INTA BALCARCE, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL, GRUPO DE SANIDAD ANIMAL [2]; CONICET [3]; CONICET [4]; UNIDAD INTEGRADA BALCARCE (FCA, UNMDP – EEA BALCARCE, INTA) RUTA 226 KM 73,5 BALCARCE [5]; CONICET [6]; INTA Balcarce-CONICET [7]

Introducción y Objetivos: La metritis post parto afecta de forma negativa la eficiencia reproductiva en vacas lecheras. Generalmente, los patógenos implicados son Escherichia coli y Trueperella pyogenes, pero la infección viral por herpesvirus (BoHV-4) y el virus de la diarrea viral bovina (vDVB) también son relevantes en la etiología de esta patología. El BoHV-4 es un gammaherpesvirus caracterizado por su baja virulencia y tropismo por las células endometriales. Su replicación exitosa se atribuye a eventos post ingreso a la célula. La activación de manera eficiente del gen Inmediato temprano 2 (IE2) es un desencadenante molecular clave en la replicación del BoHV-4, seguido de la activación de genes tardíos como los que codifican para importantes glicoproteínas (g) de la envoltura (gB, gH y gL). La gB participa en la adhesión a la célula huésped y es indispensable para la replicación lítica del BoHV-4, mientras que la gL es necesaria para el ingreso a la célula diana y forma un heterodímero con gH. Objetivo: Analizar la cinética de expresión de transcriptos de BoHV-4 en cultivo primario de células endometriales bovinas (CPCEB) infectadas naturalmente con vDVB.

Materiales y Métodos: Células: CPCEB obtenido por el método de Tebaldi. Dichas células se evaluaron para el vDVB por IFD, confirmándose la presencia del antígeno viral en las mismas (CEB DVB+); no se observó efecto citopático. Asimismo se utilizaron células endometriales bovinas sin infectar (CEB Control). Se prepararon placas de 24 wells con CEB DVB+ y CEB Control. Las células se infectaron con la cepa 07/435 de BoHV-4 a una MOI de 0,5. Luego de distintas horas post infección (p.i.) (6, 8, 12, 24, 30, 48 y 64 hs) se levantaron las células, se extrajo el ARN y se amplificaron los genes que codifican para IE2, gB, gH y gL mediante RT-PCR.

Resultados: Se observó el efecto citopático (ECP) característico del BoHV-4 en las CEB Control transcurridas las 30hs p.i., mientras que para las CEB DVB+ el ECP fue evidente luego de 48hs p.i. En lo que respecta a la expresión génica se observaron pequeñas variaciones temporales en su cinética. La expresión del gen temprano IE2 no se detectó luego de 6hs p.i. en ninguno de los cultivos infectados. No se observó variación en la cinética de expresión para la gB en ambos cultivos, siendo el comienzo de la expresión a las 24 hs p.i. al igual que en células MDBK. No obstante en las CEB Control la expresión de los genes que codifican para gH y gL se detectó a partir de 12 y 24 hs p.i. respectivamente, lo cual coincide con un estudio realizado en células MDBK. Sin embargo en las CEB DVB+ la expresión para ambos genes se observó a partir de 30hs p.i.

Conclusiones: La infección natural de células endometriales bovinas con el virus de la diarrea viral bovina afectaría de forma temporal la cinética de replicación del BoHV-4, evidenciándose por un retraso en la expresión de los genes tardíos. Los resultados obtenidos en éste estudio demuestran la importancia de utilizar cultivos celulares y suero fetal bovino libre de vDVB para evitar interferencias en estudios in vitro con BoHV-4 en particular y en herpesvirus en general.

JU 154

0774 - DETECCIÓN MOLECULAR DE ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA EN LA PROVINCIA DE SANTA FE

LOZANO-CALDERÓN, Laura[1] | RECCE, Sebastián[2] | MARENGO, Rafael[3] | ORCELLET, Viviana[3] | MOORE, Karen[4] | **PERALTA, Andrea** [1]

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO). INTA-CONICET. [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [3]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [4]

Introducción y Objetivos: Los Lentivirus de pequeños rumiantes (SRLV), pertenecen a la familia Retroviridae. Los SRLV son considerados un grupo génico con dos integrantes, el virus Maedi Visna (MVV) y virus de la Artritis Encefalitis Caprina (CAEV). Ambos virus se transmiten naturalmente entre ovejas y cabras. Los SRLV infectan monocitos y macrófagos, donde se integran el genoma como provirus. En nuestro país, se declararon brotes de CAEV en San Luis, Salta y Buenos Aires en el año 2016, con aislamientos y caracterización molecular de las cepas. En la provincia de Santa Fe, se sospecha la presencia del virus ya que se tienen datos de serología positiva para SRLV cuando el SENASA realizó un cribado serológico nacional en el año 2009. El objetivo de este trabajo es detectar si CAEV está presente en establecimientos caprinos localizados en zona de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Litoral.

Materiales y Métodos: El establecimiento de producción caprina estudiado se localiza en el distrito Las Colonias, provincia de Santa Fe a unos 18 Km de la capital provincial. Cuenta con aproximadamente 45 caprinos de los cuales dos son machos. La majada se caracteriza por ser heterogénea en cuanto a su composición, encontrándose animales Saanen, Boer, Criollas y cruzas entre ellas. La majada se constituyó hace sólo un año con animales procedentes de tres orígenes diferentes. Se tomaron muestras de 10ml de sangre con EDTA como anticoagulante y el buffy coat obtenido fue procesado con buffer de lisis de glóbulos rojos para obtener únicamente la población linfocitaria. A partir de estos PBMC se realizó una extracción de ADN (método Dellaporta) que se analizó mediante una Nested-PCR basada en el gen *gag-pol* (Grego y col., 2007) para detectar la presencia del provirus. Los fragmentos amplificados fueron purificados y enviados a secuenciar para confirmar la identidad del producto de PCR obtenido.

Resultados: En primer lugar, para descartar la presencia de inhibidores de la reacción de PCR en los ADN obtenidos a partir de los PBMC de 40 caprinos, se realizó una PCR control que amplifica un housekeeping de mamífero. Aquellas muestras de ADN consideradas aptas, fueron entonces analizadas mediante Nested-PCR para detectar el provirus. Los fragmentos de 800pb amplificados, se purificaron y clonaron para su secuenciación permitiendo su identificación molecular.

Conclusiones: Los resultados positivos a la Nested-PCR confirman los datos serológicos obtenidos hace una década atrás en la provincia de Santa Fe y demuestran la presencia del virus a pesar de no detectarse animales con sintomatología clínica. Esto indica la necesidad de continuar con el análisis en esta provincia, con el fin de identificar los animales positivos y evitar la diseminación del virus.

JU 155

0785 - NUCLEOPROTEÍNA DE ARENAVIRUS: PUNTO DE PARTIDA PARA LA BÚSQUEDA DE HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO PRECOZ DE LA FIEBRE HEMORRÁGICA ARGENTINA.

LOUREIRO, Maria Eugenia [1] | ALZOGARAY, Vanina[2] | IBAÑEZ, Lorena Itatí[1] | ESPERANTE, Sebastián[2] | D'ANTUONO, Alejandra[1] | ARMELLA SIERRA, Alicia[1]| GOLDBAUM, Fernando[2] | LOPEZ, Nora[1]

CENTRO DE VIROLOGÍA ANIMAL (CEVAN) - CONICET [1]; FUNDACIÓN INSTITUTO LELOIR [2]

Introducción y Objetivos: La Fiebre hemorrágica Argentina (FHA) es una severa enfermedad endemoepidémica de la región central del país causada por la infección con el arenavirus Junín (JUNV), cuya tasa de mortalidad es del 15-30%. El único tratamiento disponible es la administración de plasma inmune de paciente convaleciente, que puede reducir la mortalidad al 1% únicamente si es aplicado dentro de la primera semana de iniciados los síntomas. En consecuencia, el diagnóstico temprano de la infección es crucial para la toma de decisión respecto a la administración del tratamiento. Si bien actualmente se emplea un ensayo de RT-PCR, no existen otros tests para el diagnóstico temprano de la FHA de fácil implementación a campo. Dado este contexto, iniciamos el desarrollo de nuevas herramientas biotecnológicas aplicables al diagnóstico precoz y/o tratamiento de infecciones por arenavirus, con particular interés en la FHA. El objetivo del trabajo fue la generación de Nanoanticuerpos que reconozcan epitopes en la Nucleoproteína (NP), proteína viral que cumple un rol fundamental en los procesos de replicación, transcripción y morfogénesis, y que se destaca por su alta inmunogenicidad.

Materiales y Métodos: Los Nanoanticuerpos, también conocidos como Nanobodies (Nbs), corresponden al sitio de unión al antigeno presente en la cadena pesada de los anticuerpos de camélidos. Se caracterizan por ser fragmentos de pequeño tamaño (~15 kDa), altamente solubles, resistentes al calor, muy estables, y pueden ser facilmente producidos en sistemas bacterianos. Para el desarrollo de Nbs anti-NP, en primer lugar se procedió a la expresión de NP de los arenavirus JUNV y Tacaribe (TCRV) (y/o sus dominios amino o carboxilo) mediante baculovirus recombinantes o en sistemas bacterianos, como proteína de fusion a distintas etiquetas (6His o Proteina de Unión a Maltosa (MBP)), y posteriormente purificada por técnicas cromatográficas.

Resultados: Las diversas variantes de NP recombinante fueron alternativamente aplicadas tanto en 1) la inmunización de llamas para la construcción de una biblioteca de expresión de Nbs en fagos, 2) en el enriquecimiento de poblaciones de fagos específicos contra NP por la técnica de biopanning y 3) en la posterior selección de clones únicos de Nbs que reconocen epitopes compartidos en NP de JUNV y TCRV.

Conclusiones: Aquellos Nbs de mayor afinidad por NP fueron seleccionados para su caracterización y serán empleados en el desarrollo de un kit de ELISA de bajo costo para el diagnóstico temprano de FHA. Asimismo,

aquellos Nbs que conserven su interacción con NP de ambos arenavirus, serán también empleados para la identificación de posibles blancos candidatos de terapias antivirales, por bloqueo de interacciones proteína-proteína esenciales para el crecimiento viral.

CAM - Virología clínica

JU 156

0400 - INFECCIÓN CONGÉNITA POR CITOMEGALOVIRUS. LA IMPORTANCIA DEL TRABAJO INTERDISCIPLINARIO Y LA EXPERIENCIA DEL LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO. A PROPÓSITO DE UN CASO

GONZALEZ, Cecilia Alejandra [1] | AGUIRRE, Miguel Angel[2] | GIL, Daniela[3] | ALONSO, Alicia María[1]

SERVICIO: VIROSIS CONGÉNITAS, PERINATALES Y DE TS. DPTO VIROLOGÍA. INEI-ANLIS "DR. CARLOS MALBRÁN" [1]; CENTRO NACIONAL DE GENÉTICA MÉDICA. ANLIS [2]; HOSPITAL SANTOJANNI [3]

Introducción: La infección materna por Citomegalovirus (CMV) suele ser asintomática, aunque en algunos casos produce síntomas similares a una gripe o a un síndrome mononucleósico. El diagnóstico se realiza por la presencia de anticuerpos (Ac) de la clase IgM en su fase aguda. La infección durante el embarazo puede transmitirse al feto y causar alteraciones del SNC que pueden detectarse en las ecografías del segundo y tercer trimestre. Es la infección viral congénita ms frecuente, afectando un 0,2-2,5% de los nacidos vivos. La primoinfección en embarazadas en el 40 % de los casos se transmite al feto, de los cuales el 10% presentará síntomas al nacer, el 4% fallece y el 50 % presentará secuelas permanentes.

Caso Clínico: En una embarazada de 34 semanas de gestación se detectó ecográficamente microcefalia, atrofia cerebral y calcificaciones cerebrales en el feto. Se realizó una amniocentesis a las 35 semanas y en el líquido amniótico (LA) el médico solicitó estudios infectológicos y el cariotipo fetal. La sospecha diagnóstica se orientó hacia una infección congénita por el virus Zika o CMV. Los antecedentes de serológicos en la madre durante la semana 32 fueron Ac-CMV- IgG positivo y los Ac-IgM negativos, por lo que en un principio se descartó una infección congénita por CMV. En el laboratorio de Virosis Congénitas y Perinatales se recibió muestra de suero y LA para la detección de Zika y CMV. Se ejecutó un estudio del perfil de anticuerpos contra CMV por la técnica ELFA (enzyme linked fluorescent assay) y se obtuvo un Ac-CMV-IgG positivo, Ac-IgM negativo y un valor alto de avidez, lo cual indica una infección por CMV que habría tenido lugar más allá de los 3 meses (avidez alta). En el LA se realizó una PCR para la detección del gen que codifica la glicoproteína B (UL55) del genoma viral de CMV y ésta resultó positiva. Debido a este resultado, se elaboró la hipótesis de que la infección se produjo en los primeros meses de embarazo y por el tiempo transcurrido los Ac de tipo IgM aparecían indetectables. Ante el inminente alumbramiento, se informó inmediatamente a su médico para el adecuado manejo del embarazo y del recién nacido (RN). Se solicitó que se tomaran muestras de orina y líquido cefalorraquídeo del RN. Finalmente, ambas muestras tomas postnatalmente resultaron positivas y se confirmó la infección congénita por CMV.

Conclusiones: Con este trabajo, y a propósito de un caso, queremos mostrar la importancia de la complementación de la sospecha ecográfica y la toma oportuna de muestras, tanto prenatal como postnatalmente, que permitieron llegar al diagnóstico de certeza de una infección congénita por CMV. Todo ello a pesar del resultado negativo de la IgM en el suero materno. Se debe considerar que las embarazadas son inmunosuprimidas fisiológicas y con efecto de hemodilución, por lo cual las técnicas serológicas podrían no ser adecuadamente eficaces. La confirmación postnatal es imprescindible para el diagnóstico definitivo y para su pronóstico, como así también, el trabajo interdisciplinario y la especialidad del laboratorio que permitieron determinar el diagnóstico.

JU 157

0495 - OBTENCIÓN DE NANOANTICUERPOS COMO ESTRATEGIA PARA EL ESTUDIO DE LA ANTIGENICIDAD DE AISLAMIENTOS DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA

RODRIGUEZ, Pablo [1] | LUCERO, María Soledad[1] | LLAUGER, Gabriela[1] | ADURIZ, Matias[2] | PARREÑO, Gladys Viviana[2] | WIDGOROVITZ, Andres[2] | BERINSTEIN, Analía[1] | GOMEZ, Evangelina[1]

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [1]; INCUINTA, CICVyA INTA [2]

Introducción y Objetivos: El Virus de la enfermedad infecciosa de la bursa (IBDV) es el agente etiológico de una enfermedad distribuida mundialmente que infecta pollos jóvenes y que produce importantes pérdidas económicas en la industria avícola. Posee alta transmisibilidad y estabilidad en el ambiente por lo que el virus una vez presente en la granja permanece en la comida, agua y lecho por meses dificultando su erradicación. En Argentina la vacunación se realiza empleando principalmente vacunas vectorizadas o vacunas a virus vivo atenuado. A pesar de ello, se han aislado cepas que agrupan, según su secuencia nucleotídica, en un clúster

único denominado linaje sudamericano que es distinto al conformado por las cepas vacunales. Un estudio reciente empleando anticuerpos monoclonales contra cepas vacunales demostró que existen diferencias antigénicas entre el linaje sudamericano y el resto de los linajes. Dado estos hallazgos, y que posee genoma de ARN, es de esperar que este virus se diversifique rápidamente, por lo que es necesario disponer de herramientas que permitan una adecuada caracterización de las cepas circulantes en nuestro país y que contribuyan al mejoramiento de las vacunas y a la eficacia de los planes de vacunación. Las técnicas convencionales para genotipificar IBDV son muy laboriosas y consumen mucho tiempo por lo cual resulta muy interesante encontrar nuevas estrategias. Una posibilidad es el empleo de nanoanticuerpos (VHH) para diferenciar virus de IBD. Los VHH cuyo tamaño, flexibilidad paratópica, estabilidad fisicoquímica y fácil manipulación génica ofrece una manera sencilla y eficiente de obtener anticuerpos monoclonales para la detección de los distintos genotipos de IBDV. El objetivo de este trabajo fue generar herramientas que permitan la diferenciación de cepas antigénicamente distintas de IBDV, y que contribuyan al desarrollo de un test diagnóstico.

Materiales y Métodos: Se inmunizó una llama con la cepa Winterfield de IBDV y se aislaron las células mononucleares de sangre periférica. Luego, se extrajo ARN y se amplificaron las secuencias de VHH de los linfocitos B. Los amplicones se clonaron en el vector fagémido pMECS para generar una biblioteca de nanoanticuerpos en *Escherichia coli* TG1. Se realizó un biopaneo utilizando el antígeno VP2 multimerizado producido en plantas para enriquecer aquellos bacteriófagos que expresen el VHH específico fusionado a la proteína PIII. Luego se realizó un ELISA de fagos para seleccionar los clones reactivos. La existencia del gen de VHH en los clones seleccionados se corroboró mediante PCR. Se determinaron las familias de los VHH en función del análisis aminoacídico del CDR3 según las recomendaciones de "IMGT unique numbering" (www.imgt.org). Los VHH obtenidos del extracto periplásmico se purificaron mediante IMAC y exclusión molecular. Finalmente, se corroboró la capacidad antigénica de los anticuerpos mediante western blot y ELISA.

Resultados: Del biopaneo se obtuvieron 40 clones reactivos y a partir del análisis por digestión enzimática se seleccionaron 10 patrones de bandas distintas cuya secuenciación nucleotídica y análisis de los CDR3 reveló 4 familias de clones. Estos nanoanticuerpos fueron expresados y purificados obteniéndose muy buenos rendimientos y grado de pureza. Los VHH purificados mostraron capacidad de unión al antígeno.

Conclusiones: Es posible la obtención de distintas familias de VHH específicos para IBDV que pueden ser utilizados para el estudio de la antigenicidad de las cepas circulantes en Argentina.

JU 158

0529 - RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE LA PRESENCIA DE HPV, EBV, HSV-1 Y HSV-2 EN CAVIDAD ORAL DE HOMBRES Y MUJERES DE RESISTENCIA, CHACO (ARGENTINA)

SOTELO, Ailin Angelina [1] | CAVALLARO, Lucía[2] | DELUCA, Gerardo Daniel[3]

INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE, CONICET [1]; CÁTEDRA DE VIROLOGÍA, FFYB, UBA [2]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA- FACULTAD DE MEDICINA- UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [3]

Introducción y Objetivos: El cáncer de cavidad oral representa el 7º cáncer más frecuente en población general y se estima que el alrededor del 72% de los nuevos casos son HPV positivos. Sin embargo, existe una variación geográfica significativa con un incremento notable de estos casos en países de occidente. Múltiples agentes virales han sido relacionados con tumores malignos en humanos, entre estos, el HPV posee una posición destacada por su conocida relación con el cáncer cervical. En el caso del EBV su rol oncogénico está bien establecido en células B, pero su implicancia en tejidos epiteliales es menos comprendida reconociéndose como agente etiológico del carcinoma nasofaríngeo y de un subgrupo de carcinomas gástricos. Por otro lado, el HSV-1 y HSV-2 han sido sugeridos como probables cofactores de infección para el HPV (originalmente en cérvix); dado que comparten rutas de transmisión y replicación. El presente trabajo tiene como objetivo determinar la frecuencia de los virus mencionados en mucosa oral en población general (hombres y mujeres) de 18 años en adelante en la ciudad de Resistencia (Chaco-Argentina) para cuantificar la presencia de HPV, EBV, HSV-1 y HSV-2.

Materiales y Métodos: Muestras: enjuagados bucales obtenidos de personas que circulaban por la vía pública y que aceptaron participar del estudio. Los criterios de inclusión: personas iniciadas sexualmente y que no hayan sido vacunados para para HPV. Además, completaron un cuestionario epidemiológico relevando datos acerca de edad, inicio de relaciones sexuales y conductas sexuales (número de parejas sexuales en el último año, sexo oral, antecedentes de infección genital por HPV) y de riesgo, como: tabaquismo, consumo de alcohol, entre otras. Metodología: la extracción y purificación de ácidos nucleicos se realizó con columnas comerciales de sílica. La detección viral se realizó mediante PCR en tiempo real para EBV, HSV-1 y HSV-2 y por PCR convencional para HPV.Para HPV se utilizaron los cebadores PGMY 09/11 y posterior genotipificación utilizando HybriSpot 12™, (Masterdiagnóstica, España).

Resultados: Resultados: Se analizaron 134 muestras, obteniéndose un 0.7 % de muestras positivas para HPV; un 38.8 % para EBV; 3.7% y 1.5 % para HSV-1 y HSV-2, respectivamente. Solo una muestra, resultó positiva para dos virus (HPV y EBV), evidenciando una co-infección.

Conclusiones: Datos previos reportan prevalencias de 1,3 -9,2 % de HPV en población general y dicha variabilidad está fuertemente relacionada al tipo de población estudiada y a la región geográfica analizada. En países en desarrollo, se encuentra en adultos una seroconversión para HSV del 70-80% y para EBV del 90%. La información obtenida da cuenta del número de individuos infectados que hacen reactivaciones asintomáticas (EBV, HSV-1 y HSV-2) o liberan persistentemente virus en mucosa oral (HPV). Se deberá avanzar en elucidar el rol que pueden tener estos virus en la asociación con cáncer en cavidad oral en una región geográfica que tiene altos índices de mortalidad por esta patología.

JU 159

0574 - MECANISMO DE TRANSMISIÓN DE PERSONA A PERSONA DE SÍNDROME PULMONAR POR HANTAVIRUS CONFIRMADO POR SECUENCIACIÓN GENÓMICA COMPLETA, ARGENTINA, 2014

ALONSO, Daniel Oscar [1] | PEREZ-SAUTU, Unai[2] | BELLOMO, Carla[1] | PRIETO, Karla[2] | IGLESIAS, Ayelen[1] | COELHO, Rocio[1] | PERIOLO, Natalia[1] | DOMENECH, Isabel[3] | TALMON, Gabriel[4] | HANSEN, Romina[4] | PALACIOS, Gustavo[2] | MARTINEZ, Valeria Paula[1]

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; U.S. ARMY MEDICAL RESEARCH INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES [2]; HOSPITAL ZONAL DE BARILOCHE [3]; MINISTERIO DE SALUD DE LA PROVINCIA DE RÍO NEGRO [4]

Introducción y Objetivos: En 1995, se caracterizó el virus Andes (ANDV) en Argentina a raíz de un grupo de casos de Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH) provenientes de la región andina de la Patagonia, desde entonces más de 1200 casos fueron confirmados en el país. El genoma de hantavirus está compuesto por ARN de simple cadena, de polaridad negativa y dividido en 3 segmentos: S (pequeño, 1.8-2.1 kb), M (medio, 3.6-3.8 kb), L (grande, 6.5-6.7 kb). En la naturaleza el virus se mantiene en pequeños mamíferos y la infección en humanos generalmente se produce por inhalación de aerosoles contaminados con partículas virales provenientes de heces, orina y saliva de roedores infectados. Entre todas las especies de hantavirus conocidas en el mundo, ANDV es único debido a su capacidad de transmisión de persona a persona. El objetivo de este estudio fue analizar y comparar secuencias virales completas de 3 casos confirmados en 2014 provenientes de El Bolsón, Rio Negro, de los que se sospechó de la transmisión de persona a persona como vía de contagio.

Materiales y Métodos: Los 2 primeros casos, hermanos gemelos que convivían en la misma casa, comenzaron con fiebre y otros síntomas compatibles con SPH con una diferencia de 15 días entre sí (P1, P2), el tercer caso (P3) quien realizó tareas de asistencia y extracciones de sangre a uno de los pacientes anteriores durante su fase prodrómica. La obtención de secuencias genómicas viralesse produjo a partir de muestras clínicas de sangre entera y se utilizaron técnicas de Next-Generation Sequencing que incluyeron enriquecimiento viral mediante sondas específicas diseñadas para ANDV. La información contenida en archivos FASTQ fue filtrada, seleccionada y analizada mediante pipelines diseñados exclusivamente para genomas virales. El análisis de secuencias nucleotídicas y filogenia se llevó a cabo con Mega 6 y BioEdit v7.0.5.3.

Resultados: Al comparar las secuencias nucleotídicas se observó un 100% de identidad entre los segmentos S, M y L completos de P2 y P3. Aunque el P1 compartió también el 100% de identidad con P2 y P3 en los segmentos S y M, 2 cambios nucleotídicos fueron hallados en el segmento L (99.96% de identidad).

Conclusiones: Por la evidencia genómica descripta, podemos confirmar al menos un evento de transmisión de persona a persona entre P2 y P3 (100% de identidad de nucleótidos). Para definir si el contagio de P2 fue por co-exposición a una fuente en común o por transmisión de persona a persona, es necesario obtener y comparar un mayor número de genomas completos de casos de ANDV, para de esta manera establecer con precisión la tasa de variación nucleotídica en eventos de transmisión de persona a persona y también dentro de la población natural del roedor reservorio.

JU 160

0589 - EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE ADENOVIRUS EN NIÑOS CON INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA EN BUENOS AIRES DURANTE CATORCE AÑOS DE ESTUDIO

MARCONE, Débora N.[1] | **REYES, Noelia Soledad** [1] | CULASSO, Andrés[2] | VIALE, Diana[3] | RICARTE, Carmen[1] | TRENTACOSTE, Agustín[4] | ELLIS, Alejandro[4]| VIDAURRETA, Santiago[4] | CARBALLAL, Guadalupe[1] | ECHAVARRÍA, Marcela[1]

UNIDAD DE VIROLOGÍA, HOSPITAL UNIVERSITARIO CEMIC-CONICET [1]; DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]; DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, HOSPITAL GARRAHAN, [3]; DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, HOSPITAL UNIVERSITARIO CEMIC [4]

Introducción y Objetivos: Los adenovirus (AdV) pueden causar infecciones respiratorias agudas (IRA), desde leves y autolimitadas hasta graves, capaces de generar secuelas e incluso la muerte. Los AdV se clasifican en

especies (A-G) y en serotipos por neutralización y en tipos genómicos "genome types" por análisis con enzimas de restricción. Actualmente, se los clasifica en genotipos por análisis filogenéticos (secuencias parciales o completas). Las IRAs se asocian con las especies B, C y E. En particular, el AdV tipo 7 h, renombrado actualmente como genotipo AdV 66 por secuenciación y filogenia, fue descripto por primera vez en Argentina asociado con cuadros graves e incluso muerte en niños con IRA. El objetivo de este estudio es describir los genotipos circulantes durante 14 años en niños con IRA y determinar si AdV 66/7h sigue en circulación.

Materiales y Métodos: En un estudio descriptivo retrospectivo se evaluaron niños con IRA y diagnóstico positivo para AdV de 2 hospitales: Hosp. Garrahan (2000-2005) y Hosp. Universitario CEMIC (2008-2018). Se tipificaron los AdV mediante secuenciación parcial de gen del hexón, seguida de análisis filogenético con cepas de referencia por máxima verosimilitud (PhyML). Se analizaron las características demográficas y clínicas y su asociación con las especies y genotipos.

Resultados: Durante 14 años, se seleccionaron 141 muestras respiratorias positivas para AdV. De ellos, 134 (96.5%) pudieron ser tipificados. El análisis filogenético reveló la presencia de 4 especies de AdV y 11 genotipos circulantes. Las especies AdV B (52.9%) y C (37.3%) fueron las más frecuentes, seguidas de E (8.2%) y D (1.5%). Los genotipos detectados fueron B3 (28.4%), C2 (17.9%), B66/7h (14.9%), C1 (13.4%), seguido de E4 (8.2%), B55 (8.5%), C5 (6.0%), y en menor frecuencia D8 (1.5%), B11 (0.8%), B35 (0.8%) y B68 (0.8%). AdV 66/7h se detectó desde 2000 hasta 2005 en pacientes del Hosp. Garrahan. A partir del 2004 su frecuencia disminuyó mientras que el genotipo 3 comenzó a ser el más frecuente. La especie C fue predominante en los últimos años. De los 80 casos del Hosp. Garrahan, 6 niños murieron y en ellos se detectaron los genotipos 1, 3 y 66/7h; 13 niños desarrollaron severas secuelas pulmonares y 61 se recuperaron. En estos dos últimos grupos se detectó una mayor diversidad de genotipos, incluyendo los genotipos 1, 3, 66/7h. Respecto a los pacientes de CEMIC, todos se recuperaron.

Conclusiones: En niños con IRA y AdV, se detectaron 4 especies y 11 genotipos diferentes. AdV 66/7h fue el genotipo predominante desde 2000-2005. Sin embargo, no se lo detectó luego del 2005. A partir del 2008 predominó la especie C. Los genotipos AdV 66/7h, 1 y 3 se detectaron en los casos fatales. Dado que no se observó una asociación significativa entre genotipo y gravedad de la infección, factores del huésped podrían influir en el tipo de desenlace de la enfermedad.

JU 161

0594 - PRIMERA MEDICIÓN DEL IMPACTO DE LA VACUNACIÓN CONTRA VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV) EN ARGENTINA: MARCADA DISMINUCIÓN DE LA PREVALENCIA DE LOS HPV 16 Y 18 EN ADOLESCENTES VACUNADAS

GONZÁLEZ, Joaquín Víctor [1] | DELUCA, Gerardo Daniel[2] | CORREA, Rita Mariel[1] | LIOTTA, Domingo Javier[3] | BASILETTI, Jorge Alejandro[1] | COLUCCI, María Celeste[1] | ALZOGARAY, Gabriela[4] | KATZ, Nathalia[5] | VIZZOTTI, Carla[6] | PICCONI, María Alejandra[1] | EN REPRESENTACION DEL, Grupo Estudio Vigilancia Hpv[7]

SERVICIO VIRUS ONCOGÉNICOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS MALBRÁN [1]; FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [2]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES, UNAM [3]; CENTRO DE SALUD LA BANDA [4]; DIRECCIÓN DE CONTROL DE ENFERMEDADES INMUNOPREVENIBLES, SECRETARIA DE SALUD [5]; ISALUD [6]; COORDINACIÓN LAB NAC REF HPV, INEI-ANLIS MALBRAN [7]

Introducción y Objetivos: La infección persistente por virus papiloma humano (HPV) es causa necesaria para el desarrollo del cáncer cervical. De los 40 genotipos que infectan las mucosas, los HPV de alto riesgo (HPV 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73 y 82) pueden conducir a la neoplasia. En Argentina, se introdujo en 2011 en el Calendario Nacional de Vacunación, la vacuna bivalente contra los HPV tipos 16 y 18, para niñas de 11 años. El Lab Referencia de HPV comenzó la vigilancia virológica para evaluar el impacto de esta intervención, siendo las adolescentes el blanco más temprano para la evaluación. El objetivo fue: a) determinar la prevalencia total de HPV y tipo-específica en muestras cérvicovaginales de adolescentes sexualmente activas (15 y 16 años) no vacunadas (línea basal) (2014-2015) y vacunadas (2017-2018), consultantes en el Centro de Salud La Banda (Sgo del Estero) y los hospitales Madariaga (Misiones), Evita Pueblo (Berazategui), Argerich, Durand y Rivadavia (CABA); b) Comparar los datos obtenidos en ambos grupos.

Materiales y Métodos: El estudio descriptivo, transversal incluyó 957 muestras de adolescentes no vacunadas y 1.238 de adolescentes vacunadas. La detección y genotipificación viral se realizó por PCR genérica con posterior hibridación reversa que permite identificar 36 tipos de HPV en infecciones simples y mixtas.

Resultados: Los resultados mostraron una prevalencia total de HPV de 56,3% y 50,0% en las adolescentes no vacunadas y vacunadas, respectivamente. Al comparar las prevalencias tipo específicas entre ambos grupos de adolescentes se observó, en el grupo de las vacunadas, una reducción significativa en la detección de tipos HPV16 (11,1% a 1,05%), HPV 18 (6,0% a 0,6%), HPV 31 (7,1% a 1,95%) y HPV 45 (4,6% a 0,55%); el HPV 33, disminuyó en las vacunadas (3,1% a 1,85%), pero la diferencia no fue significativa. Se estimó una efectividad de la vacuna del 91,74% para la protección contra la infección de los HPV16 y 18 de manera conjunta y del 83,71% para los tipos 16/18/31/33 y 45. No se observó reemplazo de genotipos.

Conclusiones: La elevada circulación viral en este grupo etario se asocia con el debut sexual. La marcada disminución de las prevalencias de los HPV 16 y 18 demuestra la alta efectividad de la vacunación; asimismo, la caída de los genotipos de HPV no presentes en la fórmula vacunal (HPV31,33 y 45) indicaría una protección cruzada. El presente trabajo brinda los primeros datos sobre el monitoreo biológico post-introducción de la vacunación contra HPV obtenidos en un país latinoamericano. Esta información es de gran valor para sostener y optimizar la inmunización. (Becas "Carrillo- Oñativia" y "A. Sonis") Grupo Estudio Vigilancia HPV: E. Berner, V. Cramer, P. Real y S.Vázquez y (H. Argerich); C. López Kaufman, G. Kosoy y L. Katabian y (H. Rivadavia); M.S. Severino (H. Durand); A. Giurgiovich, M. Plana, M. Martínez (H. Evita Pueblo, Berazategui); JJ. Carmona y N. Tappari (H. Madariaga) y ME Tottaro (UNAM) y R. Aboslaiman (La Banda) y C. Chami, F. Coronel (Min Salud Sgo del Estero).

JU 162

0616 - CASO DE POLIOVIRUS DERIVADO EN ARGENTINA DURANTE 2018-2019

LEMA, Cristina [1] | GIRARD, Daniela[1] | MARTINEZ, Leila[1] | PASINOVICH, Marina[2] | BISCAYART, Cristian[3] | FREIRE, María Cecilia[1]

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; DIRECCIÓN DE CONTROL DE ENFERMEDADES INMUNOPREVENIBLES. SECRETARÍA DE GOBIERNO DE SALUD [2]; DIRECCIÓN DE CONTROL DE ENFERMEDADES INMUNOPREVENIBLES. SECRETARÍA DE GOBIERNO DE SALUD [3]

Introducción: Presentamos un caso de Poliovirus derivado de la vacuna (VDPV) ocurrido en Argentina en 2018 que continúa en 2019.

Caso Clínico: La paciente nació en mayo de 2017, en la provincia de San Juan y fue vacunada a los 2 y 4 meses con vacuna inactivada (IPV) y a los 6 meses con vacuna atenuada bivalente (bOPV), según el esquema actual de vacunación. Desde diciembre de ese año presentó parálisis en brazo y pierna izquierda, en febrero de 2018 se sospechó que fuera compatible con parálisis aguda fláccida (PAF) y en mayo se realizó el diagnóstico de inmunodeficiencia primaria (IDP). En noviembre de 2018, se decidió tomar muestra de materia fecal (MF) y enviarla al Centro Regional de Referencia para la detección de poliovirus (PV). En diciembre la MF estuvo disponible para realizar el diagnóstico, el cual se hizo siguiendo el protocolo utilizado en la red de laboratorios de OMS: cultivo viral, PCR con retro-transcripción en tiempo real y secuenciación. Se detectó Sabin 3 y por secuenciación se confirmó que era VDPV 3, con 13 cambios de nucleótidos en el gen VP1 con respecto a la cepa Sabin de referencia. El caso se definió como iVDPV3 por provenir de un paciente inmunosuprimido, lo cual es considerado una emergencia de Salud Pública. A partir de ese momento se realizó la búsqueda activa de casos de PAF en el área de residencia del caso, se estudiaron 22 MF de contactos y se comenzó con el manejo seguro de las excretas de la paciente. La cobertura de vacunación, con la 3º dosis, en la provincia fue 84.9% (cobertura recomendada 95% o mayor). La tasa de notificación de PAF en la provincia fue 2,33 la cual supera la esperada de 1 cada 100.000 niños menores de 15 años de edad. No se encontraron otros VDPV o Sabin 3 en los contactos u otros casos estudiados. Posteriormente se analizaron 4 muestras de la niña tomadas en forma mensual, en todas se halló iVDPV3 (con 16, 12, 22 y 23 cambios nucleotídicos, respectivamente).

Conclusiones: El último antecedente en Argentina fue en 2016 y se detectó un iVDPV2, en un paciente con IDP sin PAF. Los niños con IDP son objetivos frecuentes de infecciones crónicas por PV y funcionan como reservorios y excretores virales. Por ende representan un riesgo para la erradicación de los PV, ya que el VDPV puede surgir de ellos. Sin embargo cabe destacar que el riesgo de diseminación de estos virus a la comunidad es bajo. La vacuna OPV está contraindicada en pacientes con inmunosupresión y sus convivientes. Es habitual que dicho diagnóstico sea posterior a recibir la vacunación y es por ello que se debe prestar especial atención a estos pacientes, presenten o no parálisis.

JU 163

0681 - POLIOMAVIRUS HUMANOS CON TROPISMO CUTÁNEO EN ARGENTINA Y SU POSIBLE ROL COMO COFACTORES PARA EL DESARROLLO DE CÁNCER DE PIEL NO MELANOMA

TORRES, Carolina [1] | CORREA, Rita Mariel[2] | PICCONI, María Alejandra[2] | MBAYED, Viviana[1]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. CÁTEDRA DE VIROLOGÍA - CONICET. [1]; SERVICIO VIRUS ONCOGÉNICOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS MALBRÁN [2]

Introducción y Objetivos: Distintos poliomavirus (PyVs) humanos fueron descriptos en los últimos años, algunos con tropismo cutáneo como el poliomavirus de Células de Merkel (MCPyV) -asociado con el carcinoma de células de Merkel-, el poliomavirus asociado a la tricodisplasia espinulosa (TSPyV) y los poliomavirus humanos 6 (HPyV6) y 7 (HPyV7). Se ha propuesto que la infección por ciertos tipos de papilomavirus humanos (HPV), los llamados HPV cutáneos (HPVc) podría contribuir al desarrollo de lesiones de piel, incluso aquellas asociadas al cáncer de piel de tipo no melanoma (NMSC) -que incluye principalmente al carcinoma de células

basales (BCC) y al de células escamosas (SCC)-. Aún se desconoce si otros virus podrían tener un rol en estas patologías. El objetivo fue analizar la diversidad de los PyVs humanos con tropismo cutáneo que circulan en población de Argentina y estudiar su posible rol como cofactores para el desarrollo de NMSC.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio transversal que incluyó muestras de individuos adultos inmunocompetentes, correspondientes a: a) hisopados de piel sana (frente) (n=75) y b) biopsias de lesiones de distinta gravedad (verrugas, queratosis actínica (QA), SCC y BCC; n=82), de individuos que concurrieron a los servicios de Dermatología de los Hospitales "Dr. C. Argerich" y "Dr. FJ. Muñiz", de la CABA, Argentina. Estas muestras, habían sido analizadas previamente para la detección de HPVc. La detección e identificación viral se realizó mediante PCR y secuenciación. La asociación entre variables se analizó mediante análisis estadísticos uni- y multivariados ($p<0,05$).

Resultados: En piel sana, la detección de PyV alcanzó el 62,7 %, mientras que en el 13,3 % se observó la presencia simultánea de dos PyVs. La mayor detección se encontró para MCPyV (60,0 % de las muestras), seguido por HPyV6 (13,3 %), HPyV7 (1,3 %) y TSPyV (1,3 %). A su vez, la detección de HPVc alcanzó el 80,0 % de las muestras (datos previos) y se observó una alta proporción de coinfecciones HPV-PyV (49,3 %). Además, la detección de MCPyV se asoció con el sexo femenino (OR= 2,8; p=0,042), ajustado por edad. Por otro lado, en las muestras de lesiones, se detectó PyV en el 22,0 % (18/82), mientras que el 6,1 % presentó dos PyVs. Los PyVs encontrados fueron MCPyV (19,5 %) y HPyV6 (8,5 %). A su vez, la detección de HPVc alcanzó el 40,2 % (datos previos) y se observó que 15,9 % de las muestras presentó una coinfección HPV-PyV. La detección de PyV se asoció con la detección previa de HPV (OR= 6,0; p=0,003). Cabe destacar que en 5/18 muestras positivas para PyV no se detectó ningún HPVc y correspondieron a lesiones de QA (n=2) y BCC (n=3).

Conclusiones: Los poliomavirus con tropismo cutáneo serían virus de alta prevalencia en la población y podrían tener un rol individual o conjunto al HPV en el desarrollo de algunas lesiones de piel. [Agradecimientos: M. Coringrato y L. Olivares (Hospital Muñiz) y A. Abeldaño (Hospital Argerich).]

JU 164

0694 - COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS PARA USO DIAGNÓSTICO DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE VIRUS EPSTEIN-BARR DISPONIBLES EN ARGENTINA

FELLNER, María Dolores | DURAND, Karina | RAPISARDI, María Florencia | RODRIGUEZ, Marcelo | IRAZU, Lucía | PICCONI, María Alejandra

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: INTRODUCCIÓN: La determinación de la carga viral se aplica en la prevención, diagnóstico de laboratorio y monitoreo de tumores y linfoproliferaciones asociados al virus Epstein-Barr (EBV). La amplia diversidad de estrategias metodológicas, tipos de muestra clínica, entre otros factores de variabilidad, impiden la comparación de los resultados obtenidos en diferentes laboratorios y el establecimiento de niveles virales universales indicativos de una conducta médica. Recién en 2012, surgió el Primer Estándar Internacional de EBV de la Organización Mundial de la Salud (EBV-OMS). Inicialmente, se aplicaron ensayos artesanales luego se fueron sumando diferentes métodos de origen comercial, entre ellos: RUO o "sólo para uso en investigación", ASRs o "reactivo específico de analito" y más recientemente, IVDs o "para diagnóstico in vitro". Sin embargo, existen pocos estudios de comparación de las estrategias de detección y cuantificación de EBV (CV-EBV). OBJETIVO: Comparar tres métodos de detección y cuantificación de virus Epstein-Barr IVDs disponibles en Argentina.

Materiales y Métodos: MATERIALES Y MÉTODOS: i. Desempeño de los métodos: Se determinaron las CV-EBV (log copias/ml o UI/ml) aplicando los métodos marcas AB Analítica (AB), Argene (Ar)y Fast –Track (F-T), según indicaciones de cada fabricante (extracción ADN y PCR en tiempo real) sobre diluciones seriadas (1 a 106 UI/ml) del EBV-OMS en plasma (PL) y sangre entera (SE). Se estimaron el límite de detección, LoD (programa PODLOD); linealidad (EP06 CLSI) y sesgo vs EBV-OMS (Bland Altman). ii. Muestras clínicas: Se determinaron las CV-EBV (log copias/ml o UI/ml) con las pruebas AB, Ar y FT sobre 28 muestras de PL (n=14) y SE (n=14), provenientes de los paneles de evaluación externa de calidad QCMD-2014 y QCMD-2015. Se analizaron la correlación cuantitativa (coeficiente de Pearson) y el sesgo vs QCMD (Bland Altman). Los datos se analizaron con el programa MS Excel Analyse-it.

Resultados: RESULTADOS Los LoD para las matrices PL y SE no mostraron diferencias entre los métodos AB, Ar y FT ($p>0,05$). Los rangos lineales observados para la matriz SE fueron semejantes, mientras que para PL, los límites inferiores de cuantificación variaron en 2 niveles de concentración. El sesgo promedio (log copias/ml) vs EBV-OMS resultó: 0,38 y 0,65 (AB), -0,69 y 0,09 (Ar) y 0,29 y 0,59 (FT) para las matrices PL y SE, respectivamente. Los resultados cuantitativos (log copias/ml o UI/ml) de las muestras de PL y SE, respectivamente, vs QCMD mostraron: Coeficientes de correlación entre 0,72 y 0,97 (AB); 0,90 y 0,75 (Ar); 0,74 y 0,58 (FT) y rangos de diferencia (log copias/ml o UI/ml): -0,3/0,2 y -0,2/0,5 (AB); -1,6/-0,8 y -2,3/-0,4 (Ar); -0,7/0,1 y -1,2/0,7 (FT).

Conclusiones: CONCLUSIONES: Los métodos AB, Ar y FT demostraron una aceptable correlación con el estándar internacional EBV-OMS. La carga de EBV en PL y SE puede medirse con AB, Ar y FT en un amplio

rango lineal, con sensibilidad analítica semejante y una razonable correlación cuantitativa, aunque con un sesgo mayor al deseable.

JU 165
0719 - EPIDEMIOLOGIA DE NOROVIRUS EN ARGENTINA.

GOMES, Karina Alejandra | DEGIUSEPPE, Juan Ignacio | STUPKA, Juan

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Norovirus (NV) es el primer agente causal, a nivel mundial, de cuadros de gastroenteritis aguda (GEA) en personas de cualquier rango etario. Es el principal enteropatógeno asociado a enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) como así también a brotes de GEA en comunidades cerradas. Su mayor impacto se observa en niños pequeños, ancianos y en pacientes inmunosuprimidos, en los cuales las complicaciones asociadas a este virus ocurren con mayor frecuencia. El objetivo del presente trabajo es describir el rol de NV en la enfermedad diarreica aguda esporádica y asociada a brotes de GEA en nuestro país en los últimos 15 años.

Materiales y Métodos: Se realizó un análisis de la epidemiología de NV mediante la recopilación de datos obtenidos a partir de tres experiencias conducidas a nivel nacional: i) etiología de los brotes de GEA durante el período comprendido entre los años 2004 a 2018; ii) rol de los NV en la GEA esporádica en niños menores de 5 años; iii) detección de NV en pacientes inmunosuprimidos con cuadros de GEA durante el período 2012-2018. En todos los estudios, el diagnóstico de NV se realizó mediante técnicas de biología molecular a partir de muestras de materia fecal.

Resultados: Se estudiaron 60 brotes de GEA, de los cuales se detectó NV en el 65% (39/60) de los mismos, siendo el genogrupo II el de mayor frecuencia. En relación a las GEAs esporádicas, se estudiaron un total de 329 muestras de materia fecal de niños menores de 5 años provenientes de diversas zonas de nuestro país. En el 21% (72/329) se detectó NV como único agente, mientras que en el 10% (33/329) se detectó en infecciones mixtas, siendo la coinfección con Rotavirus (RV) la más prevalente. De este modo, NV presentó una frecuencia de detección del 31,9% en esta población. Con respecto a pacientes inmunosuprimidos con GEA, se estudiaron muestras de 39 pacientes de los cuales en el 25,6% (10/39) se detectó NV. De estos últimos, el 70% eran trasplantados de intestino, el 20% presentaban procesos linfoproliferativos y el 10% presentaban inmunodeficiencia primaria.

Conclusiones: Se destaca la elevada frecuencia de NV detectados tanto en brotes de GEA como así también en los casos esporádicos en la población pediátrica. Considerando que en nuestro país los brotes por NV no se notifican de forma obligatoria y su detección requiere de técnicas de biología molecular, el impacto de este virus se encuentra subestimado. Por otro lado, en el contexto de la incorporación de la vacuna contra el RV al Calendario Nacional, la vigilancia de NV y de otros enteropatógenos virales en niños menores de 5 años, permitirá conocer su comportamiento ante esta intervención. Por último, si bien el número de pacientes inmunosuprimidos estudiados es bajo, la frecuencia de NV detectada fue llamativamente elevada. Por lo tanto, se considera necesario profundizar en el estudio del impacto de NV para contribuír así a ampliar el espectro de agentes investigados y, de esta manera, mejorar el diagnóstico etiológico de la GEA en este tipo de pacientes, sobre todo en aquellos que fueron sometidos a trasplante intestinal.

Presentaciones orales CAM 3

Bacteriología básica, Microbiología agrícola, Microbiología veterinaria, Parasitología básica

Viernes 27 de septiembre
17:00 – 18:30 h
Sala F

Oral VI 1
0135 - ROL DE INHIBIDORES DE PROTEASAS DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM EN LA INTERACCIÓN HOSPEDADOR-PATOGENO

SAPOSNIK, Lucas [1] | CORIA, Lorena[1] | BRUNO, Laura[1] | PANDOLFI, Julieta[2] | POL, Melina[3] | MCCLELLAND, Michael[4] | PASQUEVICH, Karina[1] | CASSATARO, Juliana[1]

IIBIO-UNSAM [1]; SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL HOSPITAL ITALIANO DE BUENOS AIRES [2]; SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL HOSPITAL ITALIANO DE BUENOS AIRES [3]; DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY & MOLECULAR GENETICS, UNIVERSITY OF CALIFORNIA, IRVINE [4]

Introducción y Objetivos: Casi todos los agentes infecciosos (virus, bacterias, hongos y parásitos) ingresan al hospedador a través de mucosas. La mucosa intestinal es la interfaz más extensa entre el ambiente externo y los tejidos del cuerpo humano. La primera línea de defensa del tracto gastrointestinal se encuentra en el lumen intestinal, donde los microorganismos son degradados de forma no específica por el pH y secreciones gástricas, biliares y pancreáticas. Nuestra hipótesis es que Salmonella sintetiza inhibidores de proteasas no solo para regular la actividad de proteasas endógenas, usualmente asociadas a su virulencia, sino además para poder enfrentarse al sistema de defensa proteolítico del hospedador. Nuestro objetivo general es estudiar el rol de los inhibidores de proteasas de Salmonella en la interacción hospedador-patógeno en la mucosa gastrointestinal

Materiales y Métodos: Utilizando MEROPS se realizó un análisis in silico sobre el genoma de Salmonella y se encontraron 4 familias de inhibidores de proteasas. Para el estudio in vivo de la colonización intestinal y el desarrollo de colitis se utilizó el modelo de pre-tratamiento con estreptomicina en ratones. Luego, los animales fueron infectados por vía oral con las distintas cepas de Salmonella control o delecionadas en los genes para los inhibidores de proteasas (knock-out). Se realizaron análisis histopatológicos de cortes del cecum de los ratones, teñidos con hematoxilina y eosina. También se realizaron ensayos de invasión en la línea celular de macrófagos murinos J774, así como también en macrófagos derivados de médula ósea de ratón. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa GraphPad Prism 7

Resultados: Luego de la infección por vía oral de los ratones pre-tratados con estreptomicina usando la cepa salvaje (WT), el cecum de los mismos se vuelve marchito, reducido en tamaño y peso, pálido y lleno de exudado purulento. Además, lleva a cambios histopatológicos en el cecum de los ratones: edema pronunciado en la submucosa, cambios edematosos en la lámina propria, elongación de la cripta, ruptura de la estructura de la cripta, reducido número de células de Goblet, erosión epitelial y/o ulceración e infiltración pronunciada de granulocitos polimorfonucleares (PMNs) en la submucosa, lamina propria, pared epitelial, así como también transmigración de PMNs en el lumen intestinal. Mientras que se observa un fenotipo atenuado luego de la infección vía oral con las cepas de Salmonella knock-out para inhibidores de proteasas para producir reducción del tamaño y peso del cecum, y los cambios histopatológicos mencionados. Ensayos de invasión en la línea celular J774 de macrófagos murinos y en macrófagos derivados de médula ósea de ratón (BMDM) demostraron que las cepas knock-out en inhibidores de proteasas tienen una capacidad reducida para invadir respecto de la cepa WT

Conclusiones: Estos resultados sugieren que los inhibidores de proteasas podrían contribuir a la patogénesis de Salmonella Typhimurium y el desarrollo de colitis in vivo

Oral VI 2

0155 - *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PROVENIENTE DE INFECCIÓN CRÓNICA RECUPERA LA EXPRESIÓN DE FACTORES DE VIRULENCIA LUEGO DE PASAJES POR SANGRE EN UN MODELO MURINO DE BACTERIEMIA

SULIGOY, Carlos Mauricio [1] | DIAZ, Rocio[1] | GEHRKE, Ana[2] | CÁCERES, Maria Emilia[1] | WENDLER, Sindy[3] | GOMEZ, Marisa[2] | TUCHSCHERR, Lorena[3] | SORDELLI, Daniel Oscar[1] | NOTO LLANA, Mariangeles[1] | BUZZOLA, Fernanda[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA [1]; CEBBAD, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES [2]; INSTITUTE OF MEDICAL MICROBIOLOGY, JENA UNIVERSITY HOSPITAL [3]

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus aureus*, un patógeno oportunista, es la principal causa de osteomielitis. Al ingresar al huésped, *S. aureus*microevoluciona y se adapta para la persistencia y la cronicidad de la infección. Un rasgo adaptativo para la persistencia es la pérdida de expresión del gen *agr*, con reducción de virulencia y falta de expresión de polisacárido capsular (PC). Los mutantes de *agr* probablemente representan un callejón sin salida de la evolución en el sitio de infección, porque puede dificultarse su diseminación a través de la sangre y causar infecciones metastásicas. El objetivo de este trabajo fue determinar si existen mecanismos que le permitan a la bacteria recuperar la expresión de factores de virulencia bajo presión selectiva de ambientes hostiles como el torrente sanguíneo.

Materiales y Métodos: La cepa HU-14 se aisló de un paciente de 34 años con un implante protésico en el fémur derecho. Es SCCmec tipo 1, Agr II, ST5, CC5 y Spa t149, pero su PC fue no tipificable (NT). Posee una inserción de IS256 en *agrC*, lo que hace que *agr* esté inactivo. HU-14 fue inoculado por via i.p. a ratones CF1. Los animales se sacrificaron a las 24 h y las bacterias se recuperaron de la sangre, se sembraron en placas de TSA y a las 24 h se reinyectaron en otros ratones. Este ciclo se repitió 7 veces. El aislamiento de *S. aureus* P3.1 se recuperó en el tercer ciclo. La producción de PC5 se evaluó mediante "colony inmunoblot" y la de estafiloxantina por espectrometría. La integridad de los principales reguladores se investigó mediante el análisis de secuencia de genoma completo obtenido por Illumina MiSeq. La expresión de RNAIII y otros reguladores principales se evaluó mediante qRT-PCR. La actividad de *sigB* se evaluó por qRT-PCR de *asp23*.

Resultados: P3.1 expresó PC5 con fenotipo estable. La amplificación por PCR del locus *agr* reveló que IS256 permanecía en *agrC*. Se demostró que ambas cepas no expresaban RNAIII, confirmando que el locus *agr* estaba inactivo. Las colonias de P3.1 en TSA se observaron altamente pigmentadas en comparación

con HU-14 y sólo P3.1 produjo estafiloxantina. La evaluación de la expresión de *asp23* reveló que existe mayor actividad de *sigB* en la variante P3.1 en comparación con la cepa parental HU-14. Los niveles de producción de proteasa y hemolisina, así como el perfil de resistencia a los antibióticos de ambos aislamientos fueron idénticos.

Conclusiones: Se demostró que un aislamiento clínico de *S. aureus* adaptado a la cronicidad, que no produce PC5 ni estafiloxantina, puede recuperar la producción de ambos caracteres *in vivo* después del pasaje por el torrente sanguíneo. Dicha recuperación se asoció al aumento de la actividad de *sigB*. Así, la pérdida de expresión de PC sería un punto final de microevolución sólo en el sitio de infección. Debido a que la expresión de PC se puede recuperar dentro del hospedador a pesar que su mayor regulador continúa inactivo, nuestros hallazgos subrayan la importancia del PC como candidato a vacuna.

Oral VI 3

0687 - ESTUDIO MOLECULAR DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE LECHONES TRATADOS CON LA CEPA PROBIÓTICA *LACTOBACILLUS REUTERI* DSPV 002C

FUSARI, Marcia[1] | MARTÍ, Enrique L.[1] | SEQUEIRA, Gabriel J.[1] | ROSMINI, Marcelo[1] | **FRIZZO, Laureano Sebastián** [2]

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS, DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA, FCV-UNL [1]; ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET) / FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]

Introducción y Objetivos: Los probióticos pueden modificar la microbiota intestinal, por lo que podrían actuar en reemplazo de los promotores de crecimiento, prohibidos desde este año por SENASA. El objetivo de este estudio fue evaluar cambios de la microbiota intestinal de lechones en respuesta a la suplementación con la cepa probiótica *L. reuteri* DSPV 002C.

Materiales y Métodos: El estudio se realizó mediante electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE) y secuenciación del ADN de las bandas obtenidas. Las camadas de 5 cerdas que recibieron junto con el alimento 11 logUFC/cerda/d de la cepa *L. reuteri* DSPV 002C, conformaron el grupo probiótico (GP) y el grupo control (GC) se conformó con las camadas de 5 cerdas que no recibieron el inóculo. El análisis de DGGE de productos amplificados de la región V3 del 16S ADNr, fue realizado en muestras de ADN extraído desde la materia fecal de 3 lechones por grupo elegidos al azar a los 0, 7 y 21 d de vida. A partir del perfil de bandas del gel se construyó un dendograma por el método UPGMA. Las bandas más representativas fueron escindidas del gel y secuenciadas. Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa BLAST.

Resultados: Los perfiles de DGGE presentaron entre 5 y 16 bandas. El análisis jerárquico (UPGMA) de las comunidades microbianas determinó la conformación de dos clusters bien definidos. La población microbiana de los lechones de 21 d del GP formó un cluster y el segundo cluster quedó integrado por la microbiota de los lechones de 21 d de vida del GC junto con la de los lechones de 0 y 7 d de vida de ambos grupos. El cluster del día 21 del GP presentó un patrón electroforético característico representado por 5 bandas bien definidas y un número variable de bandas de baja intensidad. Dicha variabilidad generó que el índice de homogeneidad sea menor ($p= 0,003$) en el GP en comparación al GC, el día 21. Los índices de riqueza y diversidad bacteriana fueron similares ($p>0,05$) entre grupos, sin embargo, estos índices fueron cambiando a lo largo del ensayo, siendo mayores ($p<0,05$) a los 7 d que a los 21. El resultado de la secuenciación reveló que varios géneros eran compartidos por ambos grupos en los días 0 y 7: *Imtechella*, *Oscillibacter*, *Ruthenibacterium*, *Pseudomonas* y *Pseudoflavonifractor*. A su vez, géneros potencialmente patógenos como *Escherichia*, *Clostridium* y *Pasteurella* fueron encontrados en muestras del GP del día 0 pero no se hallaron el día 21. Los géneros predominantes en el GP el día 21 fueron: *Catenibacterium, Streptococcus* y *Corynebacterium*.

Conclusiones: Los resultados de este estudio determinaron que la suplementación de L. reuteri DSPV 002C produjo una modificación en la microbiota fecal de lechones tratados. Estudios posteriores se llevarán a cabo para evaluar si estos cambios generan efectos benéficos sobre la performance productiva, parámetros sanitarios y el sistema inmunológico.

Oral VI 4

0660 - DIVERSIDAD GENÉTICA DE AISLAMIENTOS DE *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* SENSU LATO DE DIFERENTES HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS DE NEUQUÉN

DEBIAGGI, Maríaflorencia | TARTAGLIA, Agustín | LAZZARINI, Lorena | LUCERO, Eliana Mailen | SORIANO, Silvia | PIERANGELI, Nora

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

Introducción y Objetivos: *Echinococcus granulosus* sensu lato (sl) es el agente etiológico de la echinococcosis quística (EQ), zoonosis endémica en Neuquén. El estudio de secuencias de ADN evidenció variantes genéticas que han permitido clasificar al parásito en especies y genotipos *Echinococcus granulosus* sensu stricto (ss) (G1, G3), *E. equinus* (G4), *E. ortleppi* (G5), *E. canadensis* (G6-G8, G10), así como en haplotipos (microvariantes dentro de un genotipo). La variabilidad del parásito podría tener influencia en el ciclo de transmisión, especificidad de hospedador intermediario (HI), infectividad, antigenicidad, sensibilidad a fármacos, entre otros. Existe un conocimiento amplio de los genotipos presentes en Neuquén, pero la caracterización de haplotipos es aún incompleta. El objetivo del trabajo fue determinar los haplotipos de *E. granulosus* sl presentes en Neuquén y relacionarlos con el HI.

Materiales y Métodos: Se analizaron 38 secuencias del gen cox-1 (366 pb) de *E. granulosus* sl provenientes de quistes hidatídicos de HI de Neuquén con el software Sequence Manipulation Suite. La determinación de especie, genotipo y haplotipo se realizó mediante ClustalX y Bioedit. Los haplotipos se nombraron: G1NQNA a G1NQNE, G3, G6, G6NQNB y G7. El análisis filogenético se realizó con Mega7 y la red de haplotipos con DNAsp 5.10 y Network 5.0.0.3. El número de haplotipos (h), los índices de diversidad -haplotípica (Hd) y nucleotídica- y de neutralidad Tajima's D y Fu's Fs se calcularon mediante DNAsp 5.10. La relación de haplotipos según HI se analizó con SPSS v22.

Resultados: El 76,3% (29/38) de las secuencias correspondieron a *E. granulosus* ss y 23,7% (9/38) a *E. canadensis.* Se identificaron 9 haplotipos distintos (6 de *E. granulosus* ss y 3 de *E. canadensis* y se confeccionaron 3 redes de haplotipos. La red de *E. granulosus* ss mostró un patrón tipo estrella, donde G1NQNA fue el haplotipo central y más numeroso del cual derivan los restantes. G3 mostró una base de diferencia con G1NQNE. En la red de *E. canadensisse* observa un patrón similar donde del haplotipo central y más numeroso fue G6, del que derivan G7 y G6NQNB. Los índices de neutralidad no fueron significativos. Los haplotipos G6NQNB y G7 se encontraron sólo en cabras y cerdos respectivamente. La red de *E. granulosus* sl presenta dos clusters separados: *E. canadensis* y *E. granulosus* ss.

Conclusiones: La amplia diversidad de haplotipos de *E. granulosus* sl encontrada en Neuquén presenta una red con patrón similar al encontrado en otros lugares del mundo. El haplotipo central es el que con mayor frecuencia está implicado en las infecciones humanas. La secuenciación de fragmentos de mayor número de pares de bases permitiría describir mejor la variabilidad genética de *E. granulosus*; sl. El conocimiento de la variabilidad del parásito en zonas endémicas de EQ resulta fundamental para evaluar la posible relación con la infectividad, especialmente para los humanos, y otros aspectos de la dinámica de transmisión de *E. granulosus* sl.

Oral VI 5

0150 - EFECTOS DEL RIEGO CON EFLUENTES PESQUEROS TRATADOS SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA Y LA TASA DE NITRIFICACIÓN DE UN SUELO ÁRIDO DE PATAGONIA A ESCALA DE MICROCOSMOS

VALLEJOS María Belén, MARCOS Magalí, BARRIONUEVO Cristian, OLIVERA Nelda

INSTITUTO PATAGÓNICO PARA EL ESTUDIO DE LOS ECOSISTEMAS CONTINENTALES (IPEEC - CCT CONICET CENPAT)

Introducción y Objetivos: La industria pesquera genera grandes volúmenes de efluentes que podrían representar una fuente alternativa de agua para riego de zonas áridas, y que debido a su alto contenido de nutrientes podrían beneficiar a los microorganismos del suelo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos del riego con efluentes pesqueros tratados sobre la actividad microbiana, el contenido de nitrógeno inorgánico y la tasa de nitrificación neta de suelos de un ambiente árido de Patagonia, mediante ensayos de microcosmos.

Materiales y Métodos: Se construyeron microcosmos con 500 g de suelo cubiertos con 2 g de mantillo molido (característico de la vegetación natural del sitio). Los mismos fueron incubados a 20°C durante 4 meses y sometidos a 3 tratamientos de riego: agua destilada (AD), efluente pesquero diluido 1:7 (EI) y 1:3 (EII) con agua destilada. El efluente utilizado fue caracterizado mediante los siguientes parámetros: pH, conductividad eléctrica (CE), DBO5, DQO, NO3 -+NO2- y NH4+. Se prepararon 20 réplicas de cada tratamiento, que fueron cosechadas sin reposición por cuadruplicado a las 1, 2, 4, 8 y 16 semanas de incubación para determinar: actividad deshidrogenasa (considerada un indicador de la actividad microbiana general del suelo) y el contenido de nitrógeno inorgánico (NO3-+NO2- y NH4+). Se calculó además la tasa de nitrificación neta en cada período de incubación.

Resultados: Las características químicas del efluente utilizado para riego indicaron pH neutro, CE 19,2 mS/cm, DBO5 1.065 mg/L, DQO 2.946 mg/L, contenido de NO3-+NO2- 0,016 mg/L y NH4+ 74 mg/L. Luego de 16 semanas de incubación, se hallaron diferencias significativas en la actividad deshidrogenasa entre tratamientos, siendo el tratamiento EII el que mostró la mayor actividad (7,5 ± 0,3 mg TPF h-1 kg de suelo-1) y el tratamiento AD la menor (2,9 ± 0,1 mg TPF h-1 kg de suelo-1). El contenido de nitrógeno inorgánico se comportó de manera similar, siendo los valores de NO3-+NO2- y NH4+ en EII > EI > AD luego de 16 semanas de incubación. Las curvas de las tasas de nitrificación neta de AD y EI mostraron sus valores máximos (AD:

16,4 µg NO3-+NO2 g-1d-1 luego de 4 semanas; EI: 15,7 µg NO3-+NO2 g-1d-1 luego de 2 semanas) más temprano que los microcosmos regados con EII (14,9 µg NO3-+NO2 g-1d-1 luego de 8 semanas). Sin embargo, luego de 8 semanas de incubación las tasas de nitrificación se mantuvieron constantes hasta el final del ensayo independientemente del tratamiento, siendo en EII > EI > AD.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el riego con el efluente pesquero estaría estimulando la actividad microbiana del suelo de este ambiente árido posiblemente debido al aporte de nutrientes y materia orgánica, y en particular, el elevado contenido de NH4+ del efluente estaría estimulando las tasas de nitrificación.

Oral VI 6

0164 - DEGRADACION DE VINAZA DE CAÑA DE AZUCAR POR UN HONGO AUTOCTONO DEL NOROESTE ARGENTINO: ESTUDIOS DE FITOTOXICIDAD DEL EFLUENTE TRATADO

RULLI, Macarena María | DEL GOBBO, Luciana Melisa | COLIN, Veronica Leticia

PROIMI

Introducción y Objetivos: La tecnología fúngica se reconoce como una excelente herramienta para el tratamiento de vinaza proveniente de la industria del bioetanol, efluente ácido con elevada demanda química de oxígeno (DQO) y demanda biológica de oxígeno (DBO) que causa importantes problemas ambientales en todo el mundo. En un estudio anterior se aisló un hongo nativo de la provincia de Tucumán (cepa V2) a partir de un suelo contaminado con vinaza de caña de azúcar. En objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de degradación de vinaza cruda (VC) por esta cepa, luego de 12 días tratamiento. Además, se realizaron ensayos de fitotoxicidad de la vinaza, antes y después del tratamiento, empleando semillas de Triticum aestivum L. (trigo) como bioindicador.

Materiales y Métodos: Se inocularon 200 mL de VC estéril con esporas de V2 a una concentración final de 1 × 104 UFC mL-1 y se incubó a 30°C por 12 días (inicio de la fase estacionaria). Transcurrido el periodo de incubación, el cultivo fue centrifugado (10000 g, 10 min) para separar la biomasa (B1) del sobrenadante (S1). Seguidamente, S1 fue re inoculado con esporas frescas de la cepa V2 e incubado por 12 días más, bajo las mismas condiciones, para luego separar la biomasa (B2) del sobrenadante resultante (S2). Tanto en VC como en S1 y S2, se determinaron las variaciones del pH y los porcentajes de remoción de DBO y DQO, usando métodos estándares para el análisis de aguas residuales. Además, se determinó el peso seco de los micelios resultantes (B1 y B2) por incubación en estufa a 80°C durante 72 h. Para los estudios de fitotoxicidad, se depositaron 5 semillas de trigo en placas de Petri conteniendo papel de filtro con 8 g de tierra humedecida con 4 mL de VC, S1 o S2. Luego de 7 días de incubación en oscuridad, se determinó el índice de vigor (IV) de las plántulas sometidas a cada tratamiento. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Resultados: Bajo nuestras condiciones de ensayo se observó un aumento progresivo del pH asociado al crecimiento fúngico. Mientras que el pH inicial de la VC fue de 4,2, los sobrenadantes S1 y S2 mostraron valores de 5,7 y 6,1, respectivamente. Además, se observó una reducción significativa de la DQO y DBO en los sobrenadantes tratados respecto al efluente crudo, con porcentajes de remoción del 38% y 24% para S1 y del 50% y 44% para S2. En cuanto a la biomasa, se detectaron valores de 2,2 g L-1 para B1 mientras que B2 fue < 0,5 g L-1. Por último, los ensayos de fitotoxicidad revelaron diferencias significativas en la vitalidad de las plántulas, según la muestra de vinaza probada. La mayoría de las semillas expuestas a VC no germinaron; sin embargo, el IV de las semillas expuestas a S1 y S2 fue de 4,33 ± 0,59 y 5,14 ± 0,58, respectivamente.

Conclusiones: Estos estudios demuestran la capacidad de un hongo autóctono del noroeste argentino para degradar y reducir efectivamente la toxicidad de un efluente de importancia regional como la vinaza.

Oral VI 7

0808 - DISTINTAS CONDICIONES DE CRECIMIENTO AFECTAN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PROVENIENTES DE MASTITIS BOVINA

CÁCERES, María Emilia | LOMBARTE SERRAT, Andrea | DOTTO, Cristian | SULIGOY, Carlos Mauricio | DIAZ, Rocio Ester | SORDELLI, Daniel Oscar | GIACOMODONATO, Mónica | BUZZOLA, Fernanda

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MÉDICA

Introducción y Objetivos: La mastitis es la enfermedad más importante de los rebaños lecheros siendo *S. aureus* uno de sus principales agentes. La formación de biopelícula es clave para la subsistencia de este patógeno en la glándula mamaria ya que lo protege de la acción del sistema inmune y de los antibióticos. La infección con *S. aureus* altera la composición normal de la secreción mamaria viéndose modificados los niveles de sus componentes y pH. Previamente demostramos que la limitación parcial de hierro favorece la formación de biopelículas en *S. aureus* de manera PIA (polisacárido intercelular de adherencia) dependiente y promueve cambios en el metabolismo que disminuyen el pH. El objetivo de este trabajo fue comparar la capacidad de

formar biopelículas de cepas de *S. aureus* aisladas de casos de mastitis subclínica de la región, en medios nutritivos y carentes de hierro, así como en fluidos propios de la industria lechera como leche y suero lácteo.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 16 cepas de *S. aureus*. Las biopelículas se formaron en caldo tripteína de soja suplementado con 0.25% glucosa (TSBg), TSBg depletado de iones hierro por tratamiento con Chelex-100 (CTSBg), leche entera (L) y suero lácteo de quesería (SLQ) estériles. La biomasa producida se cuantificó espectrofotométricamente luego de la tinción con cristal violeta (0,5%). La expresión de PIA se determinó mediante ELISA y medición de la DO a 492 nm.

Resultados: La producción de PIA en las diferentes cepas varió entre 2.43 y 0.51. Luego de 24 h, el medio de cultivo de las biopelículas formadas en las distintas condiciones se acidificó respecto al valor de pH inicial. El 69 % de las cepas mostraron alta y moderada capacidad para formar biopelícula en TSBg. Sin embargo, en medio CTSBg, la biomasa de las biopelículas de las cepas clasificadas como altas formadoras disminuyó un 40%. El 71% de las cepas cuyas matrices extracelulares tienen predominio de PIA mostraron ser capaces de formar biopelícula en CTSBg sugiriendo que la producción de PIA en ausencia de iones Fe libre no estaría impedida. Un único aislamiento fue incapaz de formar biopelícula en L y SLQ. En el 88% de las cepas se observaron valores de biomasa indetectables cuando las bacterias se crecieron en SLQ. La formación de biopelícula en L se observó aumentada en comparación al resto de las condiciones ($p<0.0001$). El 20% de las cepas moderadas formadoras de biopelícula en TSBg mostró un incremento significativo en la biomasa en presencia de L.

Conclusiones: En algunas cepas, la ausencia de hierro disminuyó significativamente la biomasa sin afectar la capacidad para formar biopelícula. El fluido lácteo propició el aumento de las biomasas de las biopelículas independientemente de la producción de PIA como principal componente de la matriz extracelular.

Oral VI 8

0900 - INACTIVACIÓN DE SEÑALES DE QUORUM SENSING BACTERIANO POR AISLAMIENTOS RIZOSFÉRICOS DE *TRICHODERMA* SPP.

TORRES, Mariela Analía | LEGUINA, Ana Carolina Del V. | BERTINI, Elisa Violeta | CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucía I. | FERNANDEZ, Pablo Marcelo | PAJOT, Hipólito Fernando | **NIETO PEÑALVER, Carlos Gabriel**

PROIMI

Introducción y Objetivos: Los sistemas de quorum sensing permiten a los microorganismos regular su fisiología de forma coordinada mediante señales químicas. En muchas bacterias Gram negativas, estas señales químicas son N-acil homoserina lactonas (AHLs). Estas moléculas son a la vez susceptibles de inactivarse por enzimas producidas por otros microorganismos, un fenómeno denominado quorum quenching (QQ). La inactivación reversible de las AHLs la realizan las enzimas lactonasas, que abren el anillo lactónico dando como producto la acil homoserina correspondiente. En general, la inactivación irreversible la producen las enzimas acilasas/amidasas, que rompen el enlace amida de la AHL produciendo la homoserina lactona y el ácido graso. Aunque muy caracterizadas en bacterias, estas enzimas han sido poco estudiadas en hongos filamentosos, a pesar de que coexisten con bacterias productoras de AHLs en muchos ambientes. El objetivo de este trabajo fue la caracterización de la actividad QQ en aislamientos de Trichoderma spp. aislados de la rizósfera de plantas de tomate. Trichoderma es un género de gran importancia agronómica por sus efectos positivos sobre el crecimiento vegetal.

Materiales y Métodos: A partir de raíces de plantas de tomate (var. Elpida) de una plantación comercial en Lules (Tucumán) se obtuvieron dos aislamientos de Trichoderma spp. en medio de cultivo PDA suplementado con rosa bengala. Los aislamientos se cultivaron en caldos YM, LB y King´s B suplementados de forma independiente con N-hexanoil homoserina lactona (C6-HSL) y N-dodecanoil homoserina lactona (C12-HSL). Se determinaron las AHLs residuales mediante bioensayos con Chromobacterium violaceum CV026 y VIR07, dos cepas indicadoras de AHLs de cadena corta y cadena larga, respectivamente.

Resultados: Estos ensayos permitieron confirmar que los aislados de Trichoderma spp. son capaces de inactivar completamente C6-HSL y C12-HSL luego de 48 y 72 h de incubación, respectivamente. Mediante ensayos de acidificación, se comprobó que la inactivación de dichas moléculas es irreversible, lo que sugiere que la ruptura se encuentra en el enlace amida. También se determinó que la actividad QQ es constitutiva y extracelular, conservando su actividad en ausencia del microorganismo. El tratamiento de los sobrenadantes de Trichoderma spp. con calor y con proteinasa K sugiere que las actividades QQ sobre C6-HSL y sobre C12-HSL son independientes, y que al menos la actividad QQ sobre C12-HSL es de naturaleza proteica.

Conclusiones: Los resultados encontrados muestran por primera vez la presencia de actividad QQ en Trichoderma spp. Esto sugiere una nueva característica ecológica para este microorganismo, el que podría afectar la comunicación microbiana en la rizósfera de la planta de tomate. Por otra parte, la característica extracelular de la actividad enzimática QQ tiene un interés biotecnológico adicional para continuar con su estudio, ya que generalmente esta es intracelular.

Pósters

Presentación de pósters CAM 3

Viernes 27 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

CAM – Antimicrobianos

VI 001

0229 - PERFIL DE SENSIBILIDAD/RESISTENCIA FRENTE A COLISTINA, FOSFOMICINA Y TIGECICLINA EN ENTEROBACTERIAS RECUPERADAS DE FUENTES DE AGUAS SUPERFICIALES Y SUBTERRÁNEAS DE LA PROVINCIA DEL CHACO, ARGENTINA

LÖSCH, Liliana Silvina[1] | SANDI, Alejandro Ariel[2] | LEYES, Salvador Rolando[2] | LÓPEZ, Diego Guillermo[2] | MACIN, Cristela Itatí[3] | **MERINO, Luis Antonio** [4]

INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE/ADMINISTRACIÓN PROVINCIAL DEL AGUA [1]; ADMINISTRACIÓN PROVINCIAL DEL AGUA [2]; FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [3]; INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [4]

Introducción y Objetivos: La aplicación generalizada de antimicrobianos en medicina humana y veterinaria apresuró la aparición, selección y diseminación de bacterias resistentes a los antibióticos y genes que codifican la resistencia a estos compuestos en diferentes compartimentos ambientales como aguas superficiales y subterráneas. Bacterias resistentes, los genes de resistencia a los antibióticos y los genes de virulencia son contaminantes ambientales emergentes, persistentes y una de las más serias amenazas a los ecosistemas y a la salud a nivel mundial. En Argentina sólo se trata el 20% de las aguas residuales domésticas, al tiempo que la región NEA es la de menor cobertura cloacal a nivel país. Ambos factores representan un riesgo que facilitan la incorporación de estos contaminantes al ambiente. El objetivo del presente trabajo fue explorar el perfil de sensibilidad/resistencia frente a fosfomicina (FOS), colistina (COL) y tigeciclina (TGC) en enterobacterias recuperadas de fuentes de agua superficiales y subterráneas de la provincia del Chaco.

Materiales y Métodos: Las muestras de agua se tomaron de fuentes superficiales y profundas y se enriquecieron directamente en caldo Lauril Sulfato. Posteriormente se realizó el aislamiento de las colonias en agar Eosina Azul de Metileno. Las colonias se identificaron por pruebas bioquímicas clásicas. La evaluación del perfil de sensibilidad/resistencia de las cepas frente a los tres antimicrobianos se realizó por el método de difusión en agar y/o microdilución en caldo, según las recomendaciones de EUCAST y CLSI.

Resultados: En total se analizaron 70 muestras de agua, a partir de las que se obtuvieron 106 cepas de enterobacterias. De las 30 muestras de fuentes subterráneas se obtuvieron 38 aislamientos de enterobacterias, 3 (10$) fueron resistentes a FOS y provenían de diferentes orígenes Se estudiaron 40 muestras de fuentes superficiales, de las que se recuperaron 68 cepas. Entre éstas, 9 (13,2%) presentaron resistencia individual o combinada frente a algunos de los antimicrobianos ensayados. Cinco (7,3%) presentaron resistencia sólo frente a FOS y 1 (1,5%) frente a TGC. Dos (2,9%) aislamientos fueron resistentes a FOS y TGC y 1 (1,5%) fue resistente a FOS y COL.

Conclusiones: El presente trabajo demostró la presencia de microorganismos resistentes a los compuestos ensayados en ambas fuentes de agua estudiadas, confirmando su rol de reservorios ambientales de bacterias resistentes. Al mismo tiempo, contribuye al entendimiento de la epidemiología de estos contaminantes emergentes y a plantear medidas para prevenir su diseminación.

VI 002

0241 - DISTRIBUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA Y PUNTOS DE CORTE EPIDEMIOLÓGICOS A FOSFOMICINA EN *ESCHERICHIA COLI* AISLADAS DE ANIMALES DE TERMINACIÓN

PANTOZZI, Florencia[1] | **IBAR, Mariela** [2] | NIEVAS, Victor Fabio[1] | CASAUX, Laura[1] | BUFFONI, Mariana[1]

SERVICIO DE DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y ANTIMICROBIANOS (SEDIBYA), FCV - UNLP [1]; SERVICIO DE DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y ANTIMICROBIANOS, FCV-UNLP /CONICET [2]

Introducción y Objetivos: La fosfomicina (FOS), conocida desde hace casi cuatro décadas, es un derivado del ácido fosfónico y tiene un mecanismo único de acción antimicrobiana (ATM) que implica la inhibición de la UDP-N-acetilglucosamina enolpiruvil transferasa (MurA), enzima que cataliza el primer paso en la síntesis bacteriana de la pared celular. Posee acción bactericida, es activo en biofilm y tiene un amplio espectro de acción sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas, aerobias y anaerobias. Se han descrito varios mecanismos de resistencia: la permeabilidad reducida, la modificación del sitio diana del gen murA, la modificación enzimática de FOS mediada por plásmidos (Enterobacterias). FOS ha despertado un renovado interés para el tratamiento humano en infecciones por Gram negativos resistentes a los ATM de uso tradicional incluyendo productores de β-lactamasas de espectro extendido. En Argentina FOS se utiliza en producción animal, administrada en la dieta, como promotor de crecimiento. El objetivo de este trabajo fue determinar la disminución de la sensibilidad a FOS a cepas de *Escherichia coli* aisladas de heces de animales de terminación, sanos y sin signos clínicos de enfermedad, entre los años 2010 y 2012.

Materiales y Métodos: Se determinó la sensibilidad a FOS a 60 cepas de *E. coli* aisladas de bovinos, 112 cepas de cerdos y 95 cepas de pollos parrilleros. El aislamiento e identificación bacteriana se realizó por métodos convencionales. La prueba de sensibilidad ATM fue determinada por el método de la concentración inhibitoria mínima (CIM) de dilución en agar, según normas del CLSI. La interpretación de los resultados se realizó en base a los "puntos de corte epidemiológicos" (ECOFF) o "wild-type cutoff values" (WCV) o "epidemiological cutoff values" (ECV) de acuerdo a los datos del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), que para FOS es de 8 (mg/L). Este punto de corte es importante para la detección temprana de la sensibilidad disminuida, y es utilizado en programas de vigilancia de resistencia a ATM. Los resultados se informan como población "Wild Type" (WT) si la CIM cae por debajo del valor del ECOFF, lo que involucra a poblaciones bacterianas sin un mecanismo de resistencia adquirida fenotípicamente detectable y como población "Non Wild Type" (NWT) si la CIM es más alta que ese valor y que se apartan de las poblaciones WT.

Resultados: De las 60 cepas de origen bovino sólo 2 cepas pertenecen a la población NWT con un ECOFF de 128 (mg/L); de las 112 cepas de origen porcino 9 cepas pertenecen a la población NWT con la siguiente distribución de ECOFF: 1 cepa 16 (mg/L),2 cepas 32 (mg/L),4 cepas 64 (mg/L) y 2 cepas 256 (mg/L) y de las 95 cepas de origen aviar 16 cepas pertenecen a la población NWT distribuidas: 1 cepa 16 (mg/L), 1 cepa 128 (mg/L), 4 cepas 256 (mg/L), 1 cepa 512 (mg/L) y 9 cepas 1024 (mg/L).

Conclusiones: Los resultados obtenidos en este estudio sirven como punto de partida para la vigilancia a FOS y alertan en su utilización en producción animal para resguardar su uso en infecciones humanas por bacterias multiresistentes.

VI 003

0405 - *ENTEROBACTER CLOACAE*: PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, RED WHONET - ARGENTINA

RAPOPORT, Melina | LUCERO, Celeste | MENOCAL, Alejandra | TUDURI, Ezequiel | DE MENDIETA, Juan Manuel | PASTERAN, Fernando | RED WHONET, Argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: *Enterobacter cloacae* (ECL) es aislado con mayor frecuencia de infecciones asociadas al cuidado de la salud, demostrando que es un patógeno nosocomial cada vez más prevalente. El perfil de sensibilidad fue variando con los años principalmente a expensas de la selección de aislamientos con hiperproducción de su ß-lactamasa cromosómica (AmpC), diseminación de ß-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas y la co-selección de estos mecanismos de resistencia asociada al uso de otros antimicrobianos (ATM). Objetivo: Reportar el perfil de sensibilidad a los ATM en aislamientos de ECL provenientes de infecciones intrahospitalarias (IH) de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET- Argentina en el período 2010-2017

Materiales y Métodos: Se analizaron 5072 aislamientos de ECL, recuperados de episodios de infeccion (1 por paciente), de 89 instituciones de salud distribuidas en 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM de todo el periodo se evaluó por el método de difusión con discos y/o automatizados e interpretó según CLSI 2018. FOS, COL y TIG se interpretaron según EUCAST y LNR. Los datos se analizaron con el software WHONET5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (NS) (%I+%R). Los cambios en %NS se consideraron significativos con $p<0.05$ (Fisher Test).

Resultados: En el periodo 2010-17 los ECL analizados provenían de (%): orina (30.4), sangre (24), piel y partes blandas (11.6), respiratorio (9.1), abdominal [6], herida [5] y otras (13.9). Comparando los %NS 2010+2011 vs 2016+2017 (x%,y%) se observó aumento a IMP (3.3,10.3), MER (3.2,6.3), y FEP (18.8,30). No

se observaron cambios en %NS para cefalosporinas de tercera generación (C3G) 54.4%, PTZ 33.5%, SXT 42%, TIG 4.2% y FOS 7%. Así mismo, se observó una disminución en AKN (20.6,5.7), GEN (43.2,31.4), CIP (35,28.6) y COL (2.9,1.6). En el periodo 2016-17, ECL NS a C3G (BLEE+AmpC) presentaron las siguientes R acompañantes (%NS): PTZ 56, SXT 70.3, CIP 53.5, GEN 59.8, AKN 7.7, FOS 15.4, TIG 6.6, COL 1. En el subgrupo de ECL R carbapenemes, se obtuvieron los siguientes %NS: SXT 60, CIP 46.8, GEN 54.6, AKN 22.4, FOS 14.1, TIG 9.1 y COL 4.7.

Conclusiones: ECL IH presenta %NS por encima de 30% para C3G, FEP, PTZ, SXT, GEN y CIP, evidenciando el carácter MDR de este patógeno. La NS a carbapenemes, aunque se mantiene por debajo de 10% tiene una clara tendencia en aumento. Las drogas con mayor actividad son AKN, TIG, FOS, y COL, tanto en la muestra general como en el subgrupo de ECL C3G-NS. Es preocupante el alto %NS en el subgrupo ECL R a carbapenemes a drogas clave como AKN, FOS, TIG y COL. La vigilancia continua es fundamental para evaluar el perfil de resistencia y tomar decisiones respecto de la terapia empírica.

VI 004

0470 - EFECTO INHIBITORIO DE LIPOPÉPTIDOS SINTETIZADOS POR B. AMYLOLIQUEFACIENS B31 Y B. SUBTILIS SUBSP. SUBTILIS C4, SOBRE CEPAS DE SALMONELLA SP.

HUARACHI, Sergio[1] | PETROSELLI, Gabriela[2] | ERRA BASELLS, Rosa[3] | **AUDISIO, Carina** [4]

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS - UNJU [1]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. CIHIDECAR-CONICET. [2]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. CIHIDECAR-CONICET. [3]; INIQUI-CONICET, UNSA [4]

Introducción y Objetivos: El potencial de diferentes cepas de Bacillus spp. para sintetizar metabolitos con actividad antifúngica y antibacteriana se ha utilizado en control biológico de fitopatógenos. Dentro de este género, las especies subtilis y amyloliquefaciens sintetizan diferentes metabolitos secundarios, incluyendo homólogos de surfactinas, fengicinas, iturinas, micosubtilinas, y bacilomicinas, con buena actividad antifúngica (iturinas, fengicinas) y antibacteriana (surfactinas). En la bibliografía científica actual, sin embargo, es escasa la información de cepas de Bacillus spp. con actividad inhibitoria frente a cepas del género Salmonella sp. Por ello, se decidió estudiar el efecto de las células de B. subtilis subsp. subtilis C4 y de B. amyloliquefaciens B31, y sus metabolitos frente a distintas cepas de Salmonella.

Materiales y Métodos: La actividad biológica se evaluó por el método de difusión en agar y la técnica de contacto directo en la suspensión celular (SC), en el sobrenadante libre de células (SLC) y en la fracción de lipopéptidos (FL) de ambas cepas de Bacillus. Las cepas de S. Infantis 1, S. Hadar 2, S. Newport 1, S. Enteritidis 3 y S. Typhimurium 4, fueron cedidas por el laboratorio de Bacteriología del INIQUI-CONICET (Salta). La FL de cada cepa de Bacillus se recuperó por precipitación ácida y posterior extracción con metanol, y se evaluó a diferentes concentraciones (20 mg/mL y 10 mg/mL). Por recuento en placa se determinó el número de células viables cultivables de las diferentes cepas de Salmonella sp. analizadas. La naturaleza química de los lipopéptidos presentes en los SLC y en las FL se analizó por UV-MALDI-TOF MS.

Resultados: El método de difusión en agar no reveló actividad inhibitoria significativa de las SC y los SLC de las cepas de Bacillus estudiadas. Como esta técnica puede presentar falsos negativos, se utilizó además el método de contacto directo. Este estudio reveló que tanto el SLC de B31 como el de C4, a las 24 h de contacto logró disminuir un orden log la viabilidad de todas las cepas de Salmonella analizadas en este ensayo. Por otro lado, la FL de B31 (10 mg/mL), luego de 24 h de contacto, redujo en 6 órdenes log la viabilidad S. Infantis 1, S. Newport 1, S. Enteritidis 3 y S. Hadar 2; y generó una disminución de 5 órdenes log en la cepa S. Typhimurium 4. Mientras que, la FL de C4 (20 mg/mL), inhibió totalmente las diferentes cepas estudiadas luego de 24 h. El análisis por MALDI-TOF reveló la presencia de surfactinas, iturinas y fengicinas tanto en la FL, como en el SLC de B31 y C4, lo interesante, es que fueron diferentes isoformas, situación que explicaría el diferente efecto inhibitorio observado.

Conclusiones: Estos resultados colaborarán con el conocimiento de la acción biológica de cepas de Bacillus frente a bacterias patógenas Gram (-).

VI 005

0708 - SENSIBILIDAD A LA AZITROMICINA DE AISLAMIENTOS DE *NEISSERIA GONORRHOEAE*: PRIMERA FASE DE COMPARACIÓN DE LAS PRUEBAS DE DIFUSIÓN POR DISCOS Y DILUCIÓN EN AGAR

GIANECINI, Ricardo Ariel [1] | IRAZU, Lucia[2] | RODRIGUEZ, Marcelo[2] | CLAUDIA, Oviedo[1] | CRISTALDO, Paula[1] | GONZALEZ, Melisa[1] | PROVSAG, Arg[3] | GALARZA, Patricia[1]

SERVICIO DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL, INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA, INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [2]; PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE GONOCOCO (PROVSAG) [3]

Introducción y Objetivos: Actualmente la terapia antimicrobiana dual (ceftriaxona + azitromicina) se recomienda como terapia de primera línea para el tratamiento de la gonorrea no complicada en muchos países. Sin embargo, la emergencia de aislamientos resistentes a la azitromicina y/o ceftriaxona pone en riesgo la efectividad de esta estrategia de tratamiento. El conocimiento de la sensibilidad de aislamientos de N. gonorrhoeae a la azitromicina y ceftriaxona resulta imperativo. Recientemente, el CLSI estableció para azitromicina criterios de interpretación para CIM (Sensible: <=1 µg/ml). Sin embargo, criterios de interpretación para difusión por discos no han sido establecidos. El objetivo de este estudio fue comparar la actividad in vitro de aislamientos de *N. gonorrhoeae* mediante el método de difusión por discos y dilución en agar.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 2138 aislamientos de N. gonorrhoeae colectados entre 2015 y 2018 por el PROVSAG. Las técnicas de difusión por discos y dilución en agar se realizaron de acuerdo con lo establecido por los documentos M07-11th ed. y M02-13th ed. del CLSI. La cepa de referencia ATCC 49226 y el panel OMS 2008 se utilizaron como control de calidad de las determinaciones. Discos de azitromicina con una carga de 15 µg se utilizaron para la realización de la prueba de difusión por discos. El porcentaje de discrepancias se determinó de acuerdo con las recomendaciones establecidas en la guía CLSI M23-ED5.

Resultados: En el periodo de estudio, las CIMs para azitromicina estuvieron comprendidas entre 0,016 y >=256 µg/ml, y la $CIM_{50\ /\ 90}$ fue 0,25 y 0,5 µg/ml, respectivamente. Un total de 49 aislamientos fueron categorizados como no-sensibles (n=48, CIM 2 – 8 µg/ml; n=1, CIM >=256 µg/ml). El análisis de comparación mostró que todos los aislamientos sensibles por dilución en agar tuvieron un diámetro de inhibición >=27 mm, mientras que los aislamientos no-sensibles tuvieron un diámetro de inhibición <=26 mm. Errores mayores (EM) o muy mayores (EVM) no fueron detectados. El estudio de regresión lineal evidencio una buena correlación con un r=-.39 (p<.001).

Conclusiones: La prueba de difusión por discos mostró buena correlación en comparación a la dilución en agar. Utilizando el punto de corte tentativo para azitromicina de >=27 mm (sensible) y <=26 mm (no-sensible), no se observaron EM o EVM. El método de difusión por discos y el criterio de interpretación descripto en este estudio provee un método accesible principalmente en sitios de recursos limitados para el estudio de la sensibilidad a azitromicina en N. gonorrhoeae. Un estudio que involucre un mayor número de aislamientos no-sensibles seria de utilidad para confirmar estos resultados.

VI 006

0653 - QUIMICA DEL JENGIBRE: SINTESIS DE ANALOGOS DE DEHIDROZINGERONA COMO POTENCIALES AGENTES ANTIMICROBIANOS

SAGRERA, Gabriel | ALVAREZ, Sebastian

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA, FACULTAD DE QUIMICA

Introducción y Objetivos: El desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos contra diferentes microorganismos patógenos es importante pues las enfermedades infecciosas son todavía una causa importante de muerte. Aún cuando en las últimas décadas las industrias farmacéuticas han producido un número importante de antibióticos "nuevos", estos son simplemente modificaciones de un pequeño número de estructuras ya existentes. No se ha introducido en el mercado ninguna estructura nueva de antibióticos en casi 40 años desde la aparición del ácido nalidíxico en 1962 hasta el linezolid en el 2000. De hecho, desde 1960 solo se han introducido cinco clases nuevas de antibióticos, pero ninguna de ellas ha tenido mayor impacto económico: el mercado de los antibióticos está aún dominado por las clases de antibióticos descubiertas antes de 1960. Además, la resistencia de las bacterias hacia estas drogas ha aumentado, y han aparecido cepas multiresistentes. Como consecuencia, es imperativo el descubrimiento no sólo de nuevos antibióticos, sino de nuevas clases de antibióticos. El jengibre contiene gran variedad de compuestos biológicamente activos. La dehidrozingerona, 4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-buten-2-ona, se obtiene a partir de la raíz del jengibre y posee diversas actividades biológicas (antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas). Recientemente se ha reportado la síntesis de análogos de la dehidrozingerona, encontrando que la actividad antimicrobiana contra bacterias y hongos depende de la presencia del grupo 4-OH libre y disminuye en el orden H > Me, Et > Pr, Bu, Bn. A los efectos de determinar la importancia de los grupos fenólicos libres, en este trabajo se describe la síntesis de una serie de análogos de dehidrozingerona de estructura general H3C-CO-CH=CH-Ar, donde el grupo arilo se encuentra sustituido con grupos fenólicos en diferentes posiciones.

Materiales y Métodos: Los compuestos fueron preparados por condensación aldólica entre acetona y los correspondientes benzaldehídos sustituidos. Algunos de ellos no estaban disponibles en nuestro laboratorio, por lo que fueron sintetizados. Por otra parte, y con el fin de estudiar la importancia del doble enlace sobre la actividad biológica se prepararon los correspondientes análogos de zingerona (estructura general H3C-CO-CH2-CH2-Ar) por hidrogenación catalítica de los anteriores. Todos los productos fueron purificados por recristalizacion o cromatografía en columna y caracterizados espectroscópicamente por resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masas (EM).

Resultados: Se obtuvieron 25 compuestos (algunos no descriptos aún en la literatura) con buenos rendimientos y alto grado de pureza.

Conclusiones: Se obtuvieron 25 compuestos, algunos de ellos no reportados aún en la literatura. Su actividad biológica será posteriormente evaluada contra un panel de microorganismos patógenos humanos, utilizando cepas de colección internacional.

VI 007

0683 - *SALMONELLA* SP.: PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, RED WHONET - ARGENTINA.

LUCERO, Celeste | TUDURI, Ezequiel | MENOCAL, Alejandra | DE MENDIETA, Juan Manuel | PASTERAN, Fernando | VIGILANCIA NACIONAL DE LA, Resistencia. Whonet - Argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: *Salmonella* sp. es un importante agente causal de diarreas a nivel global y puede causar infecciones invasivas en pacientes inmunosuprimidos. En nuestro país representa el segundo agente luego de *Shigella* spp. Los cuadros de diarreas en general son autolimitados por lo que sólo requieren hidración y recambio electrlolítico, sin embargo en ciertos pacientes como por ejemplo <1 año, inmunosuprimidos o en infecciones sistémicas, se considera un tratamiento antimicrobiano porque es crucial conocer el perfil de sensibilidad a los antimicrobianos (ATM). OBJETIVO: Reportar el perfil de sensibilidad a los ATM en aislamientos de *Salmonella* sp. (SAL) provenientes de infecciones de la comunidad de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET- Argentina en el período 2010-2017.

Materiales y Métodos: Se estudiaron SAL recuperadas de episodios de infección (1 por paciente), de 89 instituciones de salud distribuidas en 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM se evaluó en cada laboratorio por métodos de difusión con discos y/o automatizados y se interpretó según CLSI 2018. Los aislamientos derivados al LNR se estudiaron por PCR. Los datos se analizaron con el software WHONET5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (%NS) (%I+%R). Los cambios en %NS se consideraron significativos cuando $p<0.05$ (Test de Fisher).

Resultados: Entre 2010-2017, se estudiaron 4010 aislamientos de SAL. El 67% de los pacientes fueron menores de 10 años (0-97 años). 85% fueron muestras de heces, 5% de sangre, 4% orina y 6% otros. No hubo diferencias en los %NS a los ATM en el período estudiado. Los %NS promedio fueron: AMP 22,8, CIP 15,7, TMS 5,7, CMP 5.4, cefalosporinas de 3 generación (C3G) 2,5 y FOS 0,7. En 2016-2017 17/331 (5.1%) SAL fueron R a azitromicina (AZI), 12 de ellas portaban el gen mphA. 1321 SAL fueron serotipificadas: S. Typhimurium (STY) (633), S. Enteritidis (SEM) (457), S. Newport (54), S. Infantis (45) y otras (132). STY presentó un aumento significativo en %NS a CIP entre 2010-11 y 2016-17 (13 vs 33) y a AMP y C3G en 2013 (36% vs 12% en 2010-17) por cepas productoras de AmpC plasmídico del tipo CMY. SEN presenta menores %NS a AMP y CIP que STY (8 vs 33, 6 vs 33). Los aislamientos derivados al LNR fenotipo de BLEE fueron productores de CTX-M (27) y SHV [2]. Se detectó una S. Heindemberg resistente a los carbapenemes productora de cabapenemasa del tipo KPC.

Conclusiones: El %NS en SAL se ha mantenido estable en los últimos años. FOS, C3G, AZI, CMP y TMS podrían representar excelentes opciones como tratamiento empírico. STY presenta mayores %NS que SEN a AMP, CIP y C3G, este último a expensas de un brote de STY productora de AmpC plamídica. La vigilancia contínua de la NS a los ATM en este género y su estratificación por serovariedades permite tener un conocimiento de la epidemiología Nacional y realizar una optimización de los tratamientos empírico. La detección de fenotipos pocos frecuentes en los laboratorios clínicos y su confirmación en el LNR permiten la detección de mecanismos de resistencia emergentes.

VI 008

0792 - CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UNA CEPA CLÍNICA DE *ACINETOBACTER JUNII* PRODUCTORA DE NDM-1: TAXONOMÍA Y PLATAFORMA GENÉTICA DE RESISTENCIA.

MARCHIARO, Patricia [1] | BROVEDAN, Marco[1] | DIAZ, Maria Susana Del Lujan[1] | PEREZ, Jorgelina[2] | LARINI, Silvia[2] | VIALE, Alejandro[1] | LIMANSKY, Adriana[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) [1]; LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA (FCBYF, UNR), HOSPITAL PROVINCIAL CENTENARIO [2]

Introducción y Objetivos: Especies de *Acinetobacter* spp han sido documentadas como portadoras del gen codificante de la metalo-ß-lactamasa (MßL) NDM-1. La caracterización de plataformas genéticas que incluyen bla_{NDM}-1 en diferentes especies de este género provee evidencias de la diseminación de dicho gen desde microorganismos ambientales a patógenos oportunistas. En este contexto, se evaluó el entorno genético y localización de bla_{NDM}-1 en una cepa de Acinetobacter sp recuperada de un paciente internado en un hospital de Rosario en 2019.

Materiales y Métodos: El aislamiento, identificado como *A. haemolyticus* según VITEK 2C (BioMerieux), o *A. junii/A. johnsonii* según espectrometría de masa (MALDI Biotyper, Bruker) era productor de MßL según ensayos de sinergia. El marcador taxonómico empleado fue *rpo*B, y la caracterización del gen de resistencia (R) involucró la amplificación de genes codificantes de bla_{VIM}, bla_{IMP} y bla_{NDM}. El análisis de la plataforma genética involucró ensayos de conjugación y transformación así como PCR/secuenciación para evaluar el entorno genético inmediato del gen R, y regiones específicas de plásmidos tipo-pNDM-BJ01.

Resultados: La amplificación/secuenciación de *rpo*B indicó 98,9 % de identidad con la cepa tipo *A. junii* ATCC 17908 por tanto se reasignó como *A. junii*. Los ensayos de transferencia de ADN empleando *E. coli* DH5a; como aceptora resultaron negativos. Sin embargo, ensayos de conjugación empleando *A. bereziniae* HPC229 curada del plásmido tipo pNDM-BJ01 (HPC229c, 1) y *A. baylyi* ADP1 mostraron transconjugantes (Tc) resistentes ceftazidima. Ensayos posteriores de conjugación desde éstas a *A. baylyi* ADP1 resistente a tetraciclina mostraron el carácter autotransferible del plásmido con bla_{NDM}-1. Dichas Tc mostraron ser productoras de NDM-1, según ensayos de sinergia y PCR; y resistentes a trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) según ensayos de susceptibilidad. La caracterización molecular de las Tc mostró IS*Aba*125/bla_{NDM}-1 así como la ausencia de la región IS*Aba*14/*aph*A6 corriente arriba, usual en plásmidos tipo-pNDM-BJ01. La R a TMS motivó amplificar regiones de integrones clase 1 en las Tc, lo que condujo a hallar este elemento en dicho plásmido. La falla en la amplificación de un fragmento conservado de la región de transferencia de plásmidos conjugativos tipo-pNDM-BJ01 asociados a *Acinetobacter*spp, así como la falla en la recuperación de Tc de *E. coli* evidencian que el plásmido es diferente a los pNDM-BJ01 usuales de *Acinetobacter* spp, los cuales replican además en *E. coli*.

Conclusiones: Finalmente, la cepa clínica *A. junii* constituye al presente la primera cepa de esta especie productora de NDM-1 de nuestra ciudad. Este trabajo muestra un entorno genético inmediato distinto para bla_{NDM}-1 así como un plásmido que difiere de los reportados en *Acinetobacter* spp, agregando evidencia de plataformas genéticas diferentes en miembros de *Acinetobacter* no-*baumannii* [1], considerados reservorios de bla_{NDM}-1. 1. Brovedan M et al, AAC 2015.

VI 009

0730 - EMERGENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORA DE NDM-5 EN ARGENTINA

COSTA, Agustina [1] | FIGUEROA - ESPINOSA, Roque[1] | GAUDENZI, Florencia[2] | BERTOLINI, Pamela[2] | VIDAL, Patricia[2] | GHIGLIONE, Barbara[1] | GUTKIND, Gabriel[1] | DI CONZA, José[1]

LABORATORIO DE RESISTENCIA BACTERIANA - FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA - UBA [1]; LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA, HOSPITAL CENTRAL DE SAN ISIDRO "DR MELCHOR ÁNGEL POSSE" [2]

Introducción y Objetivos: Las metalo-beta-lactamasas de tipo NDM son capaces de hidrolizar la mayoría de los antibióticos betalactámicos (incluyendo a los carbapenémicos), pero no a los monobactámicos. Han sido descriptas 24 variantes de NDM a nivel mundial, siendo NDM-1 la más prevalente. Estas enzimas se encuentran en varias especies de *Enterobacterales*, *Acinetobacter* y *Pseudomonas*. La variante NDM-5 parece tener actividad carbapenemasa aumentada con respecto a NDM-1, y todavía no había sido reportada en la Argentina. El objetivo del trabajo es describir el primer aislamiento clínico de *E. coli* productora de NDM-5 en nuestro país.

Materiales y Métodos: El aislamiento fue recuperado de una muestra de orina de una paciente ambulatoria añosa que concurrió al Hospital Central de San Isidro "Dr. Melchor Ángel Posee" (Provincia de Buenos Aires, Argentina). El aislamiento se identificó por MALDI-TOF MS; la sensibilidad a antibióticos fue ensayada por difusión con discos según recomendaciones del CLSI y se realizó un screening fenotípico para la búsqueda de metalo-beta-lactamasas por difusión en medio sólido utilizando discos de imipenem, EDTA y meropenem. La caracterización de bla_{NDM} se realizó por PCR, clonado y secuenciación. Se realizó un ensayo de conjugación para evaluar la transferibilidad del marcador de resistencia utilizando a la cepa resistente a azida E. coli J53 como receptora, seleccionada en agar TSA suplementado con azida de sodio/cefotaxima.

Resultados: El microorganismo aislado fue identificado como *E. coli*, resistente a las cefalosporinas, los carbapenemes, los aminoglucósidos (gentamicina y amikacina), a trimetoprima-sulfametoxasol y a las fluoroquinolonas, y sensible a colistina, nitrofurantoína y aztreonam. La sinergia con EDTA resultó positiva. La caracterización molecular mostró la presencia del gen bla_{NDM}. La secuenciación del inserto resultó en la variante NDM-5, que posee las transversiones G>T en la posición 262 y A>C en la posición 460 con respecto a NDM-1, y que se traducen en las sustituciones V88L y M154L, respectivamente. El gen bla_{NDM}-5 fue transferido por conjugación y se logró co-transferir la resistencia a ambos aminoglucósidos.

Conclusiones: De acuerdo a nuestra búsqueda bibliográfica, la variante NDM-5 sólo ha sido reportada en algunos países de Asia, África y Europa. Por lo tanto, este sería el primer reporte de un aislamiento clínico

portador de dicha variante en nuestro país, que presenta resistencia acompañante a aminoglucósidos y quinolonas. Se ha demostrado además, su localización en un plásmido conjugativo alertando sobre el potencial de diseminación de este marcador de resistencia.

VI 010

0770 - CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE FRUTOS DE *ILEX PARAGUARIENSIS* SOBRE HONGOS DERMATOFITOS

MERELES RODRIGUEZ, Beda Elizabeth | FIEDLER, Jacqueline | NECHESNY, Gabriela | KLEIN, Andres | SCROMEDA, Gabriela | PALLARES, Sabrina | WANDERER, Karina | GONZALEZ, Sofia | CHADE, Miriam

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICA Y NATURALES/UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

Introducción y Objetivos: Nacional de Misiones. Posadas. Misiones. Argentina. Numerosos estudios científicos dan cuenta acerca de las propiedades biomédicas y farmacológicas de los derivados de *Ilex paraguariensis* (Yerba mate). Sin embargo, la posibilidad de su utilización como un antimicrobiano natural es un concepto que aún no ha sido estudiado y analizado en profundidad; y sobre sus frutos, que constituyen un residuo en la industria yerbatera, existen muy pocos estudios científicos realizados en cuanto a sus propiedades fitoquímicas y/o farmacológicas; y prácticamente nulos sobre la capacidad antimicrobiana de los mismos. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antifúngica in vitro de extractos acuosos de frutos de I. paraguariensissobre hongos dermatofitos.

Materiales y Métodos: Para evaluar la capacidad antifúngica del extracto yerba mate (YM), se utilizó el método de microdilución en caldo en placas de 96 pocillos con fondo en U. Se trabajaron con 50 cepas aisladas de muestras clínicas, de las especies *Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Microsporum canis, Trichophyton tonsurans* y *Microsporum gypsem*. La solución madre del extracto acuoso de frutos de yerba mate (EAFYM) deshidratado, fue preparada a una concentración de 500 mg/ml, se utilizó como disolvente agua. El medio de cultivo utilizado fue el RPMI en el cuál se realizaron diluciones 1:2 de la solución madre del EAFYM. El Inóculo fúngico fue de 1-3 $x10^3$ UFC/ml. Con las diluciones realizadas la concentración más alta del EAFYM fue de 125 mg/ml en el primer pocillo de la microplaca y la más baja de 0,49 mg/m. Se realizaron controles de crecimiento fúngico y esterilidad. La incubación se realizó a 30ºC con controles diarios hasta 96 hs. La lectura consistió en la observación visual del desarrollo fúngico a distintas concentraciones del extracto vegetal y se determinó cual fue la mínima concentración del mismo que produjo inhibición completa de crecimiento.

Resultados: La concentración mínima del EAFYM que inhibió el desarrollo fúngico de *T. mentagrophytes* fue de 62-125 mg/ml; frente a *T. rubrum* fue de 31,25-125 mg/ml; con *M. canis* de 62-125 mg/ml, con *T. tonsurans* de 62-125 mg/ml y con *M. gypsem* fue de 125 mg/ml.

Conclusiones: Se concluye que el EAFYM posee actividad antifúngica in vitro frente a las cepas de dermatofitos estudiadas, con una CIM entre 31,25-125 mg/ml. Ninguna de las cepas estudiadas presentaron resistencia frente al EAFYM a la máxima concentración probada.

VI 011

0786 - CAPACIDAD INHIBITORIA DEL ESCOBAJO, DESECHO DE LA INDUSTRIA VITIVINÍCOLA, SOBRE CEPAS DE *CANDIDA ALBICANS* AISLADAS DE PACIENTES CON CANDIDIASIS VULVOVAGINAL

D'ALMEIDA, Romina Elisa [1] | VALLEJO, Claudia[2] | PEREZ MERELLO, Mercedes[2] | VERA, M. Daniela[1] | VILLENA, Julio[3] | VIZOSO PINTO, M. Guadalupe[4] | RODRIGUEZ VAQUERO, M Jose[2]

INSIBIO- CONICET [1]; CATEDRA DE MICROBIOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN [2]; CERELA-CONICET [3]; CÁTEDRA DE MICOLOGÍA- UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMÁN [4]

Introducción y Objetivos: La Candidiasis Vulvovaginal (CVV) es una infección micótica de alta incidencia y recurrencia que causa dolor, irritación y prurito en la zona afectada. El 75% de las mujeres sufren por lo menos un episodio a lo largo de su vida. El agente etiológico más frecuente es *Candida albicans*. El tratamiento consiste principalmente en el uso de azoles antifúngicos, que provocan numerosos efectos secundarios y aparición de cepas resistentes. Por lo tanto, la búsqueda de nuevos agentes antimicóticos es necesaria y una posible fuente la representan los metabolitos de los residuos de la industria vitivinícola. El escobajo, material vegetal que soporta el racimo de la uva, conserva junto con el orujo un alto contenido de polifenoles luego del proceso de elaboración del vino. Objetivo. Evaluar la capacidad inhibidora de los extractos ricos en compuestos fenólicos del escobajo, residuo de la industria vitivinícola, sobre cepas de *Candida albicans* aisladas de muestras clínicas.

Materiales y Métodos: El extracto de escobajo (EE) se obtuvo por extracción continua en Soxhlet usando etanol como solvente. Se cuantificaron los compuestos fenólicos totales del EE y se evaluó su toxicidad sobre la viabilidad, el desarrollo larval y la reproducción de *Caenorhaditis elegans*. Se determinó la actividad antifúngica in vitro del EE (400, 600 y 800 µg/mL) sobre 2 cepas de *Candida albicans* (IBL001 e INM982891) mediante métodos de difusión en agar y de entrecruzamiento. Se determinó la capacidad del EE para inhibir el crecimiento (CIM) y la formación de biofilm de ambas cepas de *C. albicans*. La capacidad protectora de la muerte causada por cándida se estudió in vivo sobre el nematodo *C. elegans* infectado con IBL001 y INM982891.

Resultados: El rendimiento del EE fue de 15%, lo que indica que la técnica de extracción utilizada fue apropiada. El EE inhibió el crecimiento de ambas cepas de *C. albicans* ensayadas (CIM 650 µg/mL) y la formación del biofilm por las mismas en ~90%. Por otro lado, no alteró la viabilidad, el desarrollo normal ni la reproducción de *C. elegans* a las concentraciones ensayadas. El EE redujo en un 18% la muerte causada por la infección con las cepas IBL001 e INM982891 en el nematodo, utilizando 400 y 800 µg/mL, respectivamente para cada una. Este efecto fue similar al efecto protector de 1 mg/mL de Fluconazol, usado como control.

Conclusiones: El EE fue efectivo para inhibir in vitro el crecimiento y el biofilm de dos cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes con vulvovaginitis. Este efecto se vio reflejado en el ensayo in vivo, protegiendo al nematodo de la muerte causada por el patógeno. Dada la necesidad de encontrar nuevos agentes antimicóticos para el tratamiento de CVV causada por *C. albicans*, y de hallar formas alternativas de revalorizar y utilizar los desechos de las industrias ricos en metabolitos activos, el extracto de escobajo demostró tener actividad antifúngica para ser explotada en el desarrollo de nuevos antimicóticos.

VI 012

0797 - DISEMINACION CLONAL DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PRODUCTORA DE ß LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO EN SERVICIOS DE UN HOSPITAL GENERAL.

MARTÍNEZ, Cecilia [1] | DALMAN, Maria Del Carmen[1] | GREGORINI, Eduardo[1] | LIMANSKY, Adriana[2] | MARCHIARO, Patricia[2] | REBAGLIATI, Juan Daniel[3] | RINAUDO, Mariángel[1] | TRUCCOLO, Paula[4] | COLOMBO, Laura[1]

ÁREA BACTERIOLOGÍA-DPTO DE MICROBIOLOGÍA-FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS-UNR [1]; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) [2]; SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL ESCUELA EVA PERÓN. GRANADERO BAIGORRIA [3]; SERVICIO DE INFECTOLOGÍA. HOSPITAL ESCUELA EVA PERÓN. GRANADERO BAIGORRIA [4]

Introducción y Objetivos: El desarrollo de infecciones intrahospitalarias con gérmenes multirresistentes (MR) constituye un grave problema de Salud Pública. La diseminación de clones MR reduce el espectro terapéutico dejando como alternativas antibióticos con alta toxicidad. Esto motiva el advenimiento de otras drogas, como Ceftolozano/Tazobactam (C/T), nuevo agente antimicrobiano con actividad contra Pseudomonas aeruginosa y otros patógenos gram-negativos, incluidas enterobacterias productoras de ß- lactamasa de espectro extendido (BLEE). Ceftolozano es una nueva cefalosporina, y el tazobactam es inhibidor de ß- lactamasas de clase molecular A, incluyendo BLEE (i.e. CTX-M, SHV y TEM) y no activo frente a carbapenemasas de clase A, B ó D. En el período febrero 2018-enero 2019, en el marco de la evaluación in vitro de C/T se hallaron 14 aislamientos clínicos de *P.aeruginosa* MR no sensibles a dicho antimicrobiano, recuperados de pacientes internados en salas de Terapia Intensiva, Clínica Médica y Clínica Quirúrgica de un hospital público de Granadero Baigorria. Bajo el objetivo de caracterizar estos aislamientos se investigó la presencia de BLEE y carbapenemasas, así como la identidad clonal de los mismos.

Materiales y Métodos: BLEE fue detectada mediante difusión con discos de ceftazidima (CAZ) y ceftazidima/clavulánico (CAZ/CLA), considerando una diferencia de halos mayor a 4 mm. La producción de carbapenemasas se evaluó mediante el método colorimétrico "Rapid Blue Carba Kit", y las metalo-beta lactamasas lactamasas con ensayos de sinergia, empleando carbapenemes y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). La susceptibilidad a C/T se evaluó mediante el método elipsométrico, según puntos de corte del CLSI. La identidad clonal de aislamientos seleccionados se determinó mediante PCR con oligonucleotídicos degenerados (OD-PCR).

Resultados: Todos los aislamientos resultaron ser solo productores de BLEE. La concentración inhibitoria mínima de C/T mostró valores en la categoría de Intermedio (dos aislamientos con CIM de 8µg/ml) y Resistentes (seis aislamientos con CIM mayor a 256 µg/ml, dos con16 µg/ml y los restantes con 96 µg/ml, 64 µg/ml, 48 µg/ml, 32 µg/ml). Ante la sospecha de diseminación de un clon epidémico, se seleccionaron 3 aislamientos para su caracterización genotípica por OD-PCR. La técnica mostró que los aislamientos correspondían al mismo clon.

Conclusiones: Se detectó la diseminación de una cepa de *P.aeruginosa* productora de BLEE, resistente a C/T, previo a su utilización en el Hospital. Se alerta sobre la probabilidad de fallas terapéuticas ante su uso como tratamiento empírico.Se sugiere monitorear la presencia de la enzima como parte de la vigilancia epidemiológica.

VI 013

0805 - EVALUACIÓN DE LA GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO POR COMBINACIONES SINÉRGICAS DE NORFLOXACINO Y SULFONAMIDAS ANTIBACTERIANAS

AYALA GOMEZ, Rosalía[1] | SILVERO COMPAGNUCCI, María Jazmín[2] | BECERRA, María Cecilia[2] | **PINTO VITORINO, Graciela** [1]

UNPSJB [1]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNC [2]

Introducción y Objetivos: El aumento de resistencia a antimicrobianos (RAM) y la disminución de la producción de nuevos antibióticos suponen una amenaza para la salud pública mundial. Una de las estrategias utilizadas para combatir la RAM es el empleo de combinaciones de agentes antibacterianos que generen sinergismo. El efecto sinérgico de una combinación puede deberse a múltiples razones, como la inhibición secuencial u ortogonal en distintos pasos de una misma ruta metabólica o el aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), altamente tóxicas para los microorganismos. Las Fluorquinolonas (FQ) generan niveles variables de ROS que contribuyen al daño y a la muerte celular. Específicamente, norfloxacino (NOR) aumenta la reserva de nucleótidos oxidados por los niveles elevados de ROS. En el caso de las sulfonamidas antibacterianas (SA), recientemente se demostró que el sulfametoxazol (SMX) participa en la regulación de las proteínas involucradas en la respuesta al estrés oxidativo en micobacterias. En estudios anteriores hemos determinado el efecto sinérgico de combinaciones de FQ y SA en cepas de *Escherichia Coli* ATCC 25922 (*E. coli* 25922) y en una cepa clínica resistente (E. coli RQNI). En esta oportunidad nos propusimos investigar el impacto de combinaciones sinérgicas de NOR y SA sobre la generación de ROS.

Materiales y Métodos: Para evaluar la capacidad de generación de ROS por la cepa de *E. coli* 25922 se trabajó con NOR y tres SA: sulfadiazina (SDZ), sulfatiazol (STZ), SMX, y sus combinaciones (NOR-SDZ, NOR-STZ y NOR-SMX). Además, se seleccionó a la combinación NOR-SDZ, para evaluar la producción de ROS en la cepa de E. coli RQNI. La detección de ROS se realizó empleando la técnica del azul de nitrotetrazolio (NBT) y por espectrofluorometría utilizando la sonda 2,7 dicloro dihidrofluoresceína ($DCFH_2$-DA), en ambos casos las muestras se procesaron por triplicado.

Resultados: Ambas cepas presentaron mayor capacidad de generar ROS al ser tratadas con los antibióticos individuales, respecto a las combinaciones; siendo las sulfonamidas mejores agentes estresantes y, particularmente, el STZ es el que produce mayor estrés oxidativo. Además, se observó que *E. coliRQNI* tienen mayor capacidad de producción de ROS, es decir, es más susceptible de sufrir estrés oxidativo frente a estos antibióticos; y este efecto es mayor en NOR y SDZ que en la combinación NOR-SDZ.

Conclusiones: Estos resultados son alentadores, ya que son compatibles con las pruebas de sinergismo previamente obtenidas. Los bajos niveles de ROS observados en las combinaciones sinérgicas se deben a la rápida disminución de la viabilidad de las bacterias, por lo que no se logra observar un aumento significativo de ROS. Los efectos antibacterianos son complejos y multifactoriales, por eso a fin de profundizar estos estudios y comprender el mecanismo sinérgico, es necesario realizar investigaciones más profundas.

VI 014

0833 - DIVERSIDAD DE LAS PLATAFORMAS TN7 PORTADORAS DE INTEGRONES DE CLASE 2

MASSÓ, Mariana | PÁEZ, Laura Camila | GALÁN, Angélica | ÁLVAREZ, Verónica Elizabeth | CENTRON, Daniela | QUIROGA, María Paula

INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (IMPAM, UBA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Los transposones Tn7 y sus derivados Tn7-like son reservorio de múltiples resistencias a antibióticos en bacterias debido a que algunos portan integrones de clase 2 (IC2). La transferencia horizontal genética (THG) juega un rol principal en la dispersión de los IC2. En el presente trabajo investigamos las plataformas genéticas de los transposones Tn7 y Tn7-like que diseminan IC2.

Materiales y Métodos: Examinamos los transposones Tn7 depositados en GenBank que portaban IC2 y que poseían el módulo de transposición *tnsABCDE* completo. Clasificamos en alelos a los genes *intI2* y *tnsABCD*, a partir de alineamientos múltiples (Clustal), y determinamos las combinaciones que originaron las plataformas genéticas existentes. Concatenamos los genes *tnsABCD* y utilizamos la herramienta MEGA para la reconstrucción filogenética mediante el algoritmo de Máxima Verosimilitud. La prueba de filogenia fue mediante el método de bootstrap con 1000 réplicas. En aquellas plataformas invadidas por secuencias de inserción (IS), reconstruimos el alelo primitivo y posteriormente lo concatenamos de igual forma que el resto de las secuencias.

Resultados: Agrupamos las plataformas en 14 categorías de transposones Tn7 (n=73) y 10 alelos *intI2* (n=98). La variabilidad del módulo *tnsABCDE* estuvo dada principalmente por mutaciones en tnsD, que codifica para una proteína reguladora de la transposición. Tres categorías de Tn7 mostraron mutaciones que afectan la funcionalidad respecto del Tn7 canónico. Observamos 2 plataformas Tn7 que se diseminan actualmente, las de variantes $TnsABCD_6$ y $TnsABCD_3$, con genes *intI2* no funcionales y representan el 84% de los registros. El $TnsABCD_6$ (64%) se encontró en *Shigella spp.* (38,3%), *E. coli* (19,1%), *Proteus mirabilis* (10,6%), *Acinetobacter baumannii* (8,5%), *Providencia spp*. (6,4%), *Enterobacter cloacae* (4,3%), *Morganella morganii* (4,3%), *Oblitimonas alkaliphila* (4,3%) y *Pseudomonas aeruginosa* (4,3%). En contraste, $TNSABCD_3$ se encontró alojado en *Klebsiella pneumoniae* exclusivamente (20%). Las zonas variables (ZV) de los IC2 llevan predominantemente el arreglo de genes cassette típico dfrA1-sat2-aadA1-orfX, aunque también observamos catB3-blaOXA-1-aacA4-orfX; dfrA1-ltrA (intrón del grupo II); blaIMP-27-sat1-spcR-orfX; y ZV con genes cassettes no identificados o gcu. Encontramos plataformas invadidas por IS3, IS4-like, IS5 e IS630. Finalmente, en cuanto al sitio de inserción del transposón Tn7, observamos preponderancia de la inserción cromosómica en el sitio attTn7.

Conclusiones: El estudio evolutivo mostró que las plataformas Tn7 de los clados más recientes llevan el arreglo canónico de *tnsABCDE* y portan variantes IntI2 no funcionales, aunque detectamos clados basales con IntI2 funcionales embebidas en Tn7-like. Esto indica que la dispersión de los IC2 embebidos en Tn7 se dio principalmente a partir de un ancestro común que portaba un IC2 con una integrasa IntI2 no funcional, sin embargo los mecanismos precisos de la THG aún no se conocen completamente.

VI 015

0842 - *BREVIBACTERIUM LINENS*, UNA BACTERIA EXTREMADAMENTE TOLERANTE CON ACTIVIDAD ANTI-HERPÉTICA

MAIZEL, Daniela[1] | **SALINAS, Franco Maximiliano** [2] | SOLÓRZANO, Inés[2] | FERRERO, Marcela Alejandra[3] | MAUAS, Pablo Jacobo David[1] | ALCHÉ, Laura Edith[2]

INSTITUTO DE ASTRONOMÍA Y FÍSICA DEL ESPACIO, CONICET, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [1]; INSTITUTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES (IQUIBICEN) [2]; PROIMI-CONICET- UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMÁN [3]

Introducción y Objetivos: Los ambientes extremos a menudo constituyen una fuente de microorganismos extremófilos con capacidad de sobrevivir y prosperar en dichas condiciones adversas. Como mecanismo de respuesta a estos ambientes, muchos extremófilos producen nuevas moléculas de interés biológico, estas resultan interesantes ya que constituyen una nueva fuente de fármacos para la industria biotecnológica y farmacéutica. Las infecciones por el Virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) son bastante comunes en los humanos y persisten durante toda su vida. El HSV-1 está involucrado en infecciones faciales, enfermedades oculares, encefalitis y complicaciones graves en pacientes inmunocomprometidos. Si bien su tratamiento se basa en el uso de varios fármacos antivirales selectivos, como el Aciclovir (ACV), actualmente no existe cura para sus infecciones ni puede ser controlado mediante la vacunación de los individuos. El uso clínico intensivo de drogas antivirales para tratar las infecciones por HSV-1 ha llevado a la aparición de cepas resistentes a los medicamentos. En consecuencia, existe una necesidad urgente de nuevas drogas anti-HSV-1 para tratar aquellas poblaciones resistentes. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar a *B. linens* AE038-8 (cepa bacteriana aislada de agua de pozo rica en arsénico) en términos de su resistencia y producción de principios bioactivos anti-HSV-1.

Materiales y Métodos: Mediante cultivos en medio LB_25 líquido y semisólido se evaluó la resistencia de AE038-8 a diferentes factores de estrés. El screening y la titulación viral se llevó a cabo utilizando células Vero, las cuales fueron infectadas con la cepa FIELD de HSV-1 resistente a ACV.

Resultados: En relación con el rango de temperatura probado *B. linens* creció a 20ºC, es un mesófilo. Por otro lado*, B. linens* fue capaz de crecer en altas concentraciones de metales pesados como Cr(VI) y Cu(II), mostrando un alto nivel de tolerancia. Cuando se llevó a cabo el crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones de NaCl, AE038-8 creció hasta concentraciones de 3 M. Además, B. linens puede crecer en condiciones combinadas de 3 M NaCl y 3 mM de As (III). Por otro lado, se evaluaron los sobrenadantes en busca de actividad anti-HSV-1 frente a una cepa resistente a ACV. Al analizar los sobrenadantes de los distintos cultivos bacterianos, observamos que en todas las condiciones de crecimiento*, B. linens* generó un principio bioactivo con capacidad de inhibir la multiplicación de una cepa HSV-1 resistente al ACV. Finalmente, el principio anti-HSV-1 presente en los sobrenadantes no parece estar relacionado con el número de bacterias.

Conclusiones: En conclusión, *B. linens* AE038-8 es una cepa bacteriana aislada de agua de pozo rica en arsénico que resultó altamente resistente a la salinidad, así como a otros factores de estrés que investigamos. *B. linens* AE038-8 secreta un principio bioactivo con actividad antiviral contra cepas de HSV-1 resistente al ACV. Estos resultados nos alientan a continuar los estudios para caracterizar los compuestos responsables de esta actividad.

VI 016

0293 - EMERGENCIA DEL CLON MULTIRESISTENTE DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* "DENMARK14-32" ST230 EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS CON ENFERMEDAD NEUMOCOCICA INVASIVA (ENI) EN EL PERIODO POST-PCV13

GAGETTI, Paula [1] | MENOCAL, Maria Alejandra[1] | FACCONE, Diego[1] | FOSSATI, Sofia[2] | NAPOLI, Daniela[2] | REGUEIRA, Mabel[2] | GRUPO SPN, Argentina[1] | CORSO, Alejandra[1]

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN" [1]; SERVICIO BACTERIOLOGIA CLINICA, INEI-ANLIS"DR. CARLOS G. MALBRAN" [2]

Introducción y Objetivos: En Argentina, PCV13 se incorporó al Calendario Nacional de Vacunación en enero de 2012 para niños <2 años. Desde 1993, en el LNR se realiza la vigilancia de serotipos y resistencia antimicrobiana en *S. pneumoniae* (Spn), SIREVA II - OPS/WHO. El serotipo 24 se encontraba ocasionalmente antes de 2012 y emerge luego de la introducción de la PCV13. Objetivo: analizar la tendencia en la distribución del serotipo 24 y su resistencia asociada en niños <2 años con ENI entre 2010 y 2016.

Materiales y Métodos: Entre 2010 y 2016 se recibieron en el LNR 1821 Spn aislados de sitio estéril en niños <6 años con ENI provenientes de 150 hospitales, 23 provincias y CABA. 1029 (56.5%) fueron <2 años. Los aislamientos se serotipificaron por Quellung, las CIMs se realizaron por dilución en agar (CLSI) y los genes de resistencia se estudiaron por PCR. Se evaluó la relación clonal por *SmaI*-PFGE y MLST. Diagnóstico: neumonía (42%), meningitis (28%), sepsis (16%), otros (14%). 80/1029 (7.8%) de los Spn fueron serotipo 24. Para facilitar el análisis se definieron tres periodos: pre-PCV13 (2010-11), de transición (2012) y post-PCV13 (2013-16).

Resultados: Entre los 1029 Spn aislados en <2 años, se observó disminución de los serotipos incluidos en la PCV13 de 86.4% (pre-PCV13) a 33.7% (post-PCV13) asociado a los serotipos 14, 6A, 6B and 5 ($p<0.05$). Se observó aumento de los serotipos no-PCV13 de 13.6% (pre-PCV13) a 66.3%% (post-PCV13), principalmente asociado a 24, 12F y 23B ($p<0.05$). De los 80 Spn serotipo 24 estudiados, 44 (55%) fueron de niños <1 año. El serotipo 24 aumentó de 2.1% a 16.2% (pre-/post-PCV13), y es el prevalente desde 2013 en <2 años. Si comparamos la No-sensibilidad (NS) (I+R) en los aislamientos serotipo 24 entre los períodos pre-/post-PCV13: penicilina (PEN) (CIM >=0.12µg/ml) 70/91.2%, cefotaxima (CIM>=1µg/ml) 0/1.5%, eritromicina (ERY) 70/89.7%, tetraciclina (TET) y doxiciclina (DOX) 60/83.8%, y trimetoprima-sulfametoxazol (SXT) 60/89.7%. No se observó NS a meropenem, cloranfenicol, levofloxacina, rifampicina, ceftarolina y vancomicina. Se detectó el gen *ermB* en 97.1% de los aislamientos NS-ERY y el *mefA* en 2.9%. Todos los NS-TET portaron el gen *tetM*. La resistencia múltiple (MDR) a PEN, ERY, TET, DOX y SXT aumentó de 50% en pre-PCV13 a 82% en post-PCV13 ($p<0.05$). Los aislamientos del pulsotipo dominante pertenecen al clon epidémico "Denmark14-32" ST230.

Conclusiones: El serotipo 24 representa en la actualidad el principal serotipo no-PCV13 en <2 años con ENI. El aumento en la prevalencia del serotipo 24 MDR en el periodo post-PCV13 se asoció al clon "Denmark14-32" ST230. Este serotipo emergente MDR no incluído en ninguna de las vacunas disponibles, podría presentar una amenaza en pacientes con enfermedad neumocócica invasiva.

VI 017

0318 - *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS 2010-2017. PROGRAMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS, RED WHONET - ARGENTINA. (WHONET-AR)

MENOCAL, Alejandra | LUCERO, Celeste | GAGETTI, Paula | PASTERAN, Fernando | TUDURI, Ezequiel | DE MENDIETA, Juan | RED WHONET, Argentina | CORSO, Alejandra

SERVICIO ANTIMICROBIANOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS"DR.CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus aureus* (SAU) es uno de los microorganismos más frecuente aislado tanto en infecciones de inicio en el hospital (HO: Hospital onset), como en la comunidad (CO: Community onset). Puede causar un amplio espectro de infecciones, desde leves de piel y tejidos blandos hasta invasivas, como neumonía, bacteriemia y sepsis. El objetivo de este trabajo es reportar el perfil de sensibilidad a los antimicrobianos (ATM) en aislamientos de SAU provenientes de infecciones hospitalarias/de la comunidad de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET-Argentina en el período 2010-2017.

Materiales y Métodos: Se analizaron aislamientos de SAU, recuperados de episodios de infección (1 por paciente), de 89 centros, 23 provincias y CABA. La sensibilidad a los ATM se evaluó por el método de difusión con discos y/o automatizados e interpretó según CLSI 2018. Los datos se analizaron con el software WHONET 5.6. Se muestran los resultados como % de No-Sensibilidad (NS) (%I+%R). Los cambios en %NS se

consideraron significativos cuando p<0,05 (Test de Fisher). En los casos en los que se mantuvo estable se consideró el promedio 2010-2017.

Resultados: Entre 2010 y 2017, se analizaron 32.992 SAU: 18.511 CO (56%), 14.481 HO (44%), 15.959 MRSA (48%) y 17.033 MSSA (52%). Entre los MRSA, 9.241 (58%) fueron CO-MRSA y 6.718 (42%) HO-MRSA. Procedencia de las muestras: 39% piel y partes blandas (PPB), 24% sangre (SAN), 8% líquidos de punción, 28% otros. Comparando 2010-2011 vs 2016-2017 se encontró: i) SAU: disminución %NS a OXA (52 vs 47) y CIP (16 vs 10), sin cambios para ERY (26), CLI (19), GEN (20), SXT (3,5), MIN (0,6), TET (1,5) y RIF [4]. ii) MRSA: disminución %NS a ERY (36 vs 23), CLI (26 vs 18), GEN (32 vs 22) y CIP (25 vs 13), sin cambios para SXT [5], MIN (0,6), TET [1] y RIF [6]. iii) MSSA: aumento %NS a ERY (14 vs 22), CLI (6 vs 15), GEN (8 vs 11), sin cambios para CIP [4], SXT [2], MIN (0,2), TET [2] y RIF [1]. iv) CO-MRSA: sin cambios en % NS para ERY (21), CLI (16), GEN (19), CIP [11], SXT [2], MIN (0,6), TET (1,5) y RIF [4]. v) HO-MRSA: disminución %NS a ERY (61 vs 34), CLI (56 vs 26), GEN (55 vs 28), CIP (51 vs 23), TET (4 vs 2) y RIF (14 vs 7), sin cambios para SXT [7] y MIN [1]. Entre 2010-2017, el % MRSA fue 63% en PPB y 45% en SAN. Analizando 2017 se encontró diferencia en el % MRSA por región, mayor en el Norte (78% PPB y 63% SAN), respecto al Centro (65% PPB y 50% SAN) y Sur del país (36% PPB, 25% SAN).

Conclusiones: En SAU se observó una leve disminución del % MRSA y NS CIP. En MRSA, disminuyó la NS ERY, CLI, GEN y CIP, que probablemente refleja el aumento de clones CA-MRSA y la disminución de los clones HA-MRSA en el tiempo. Por el contrario, en MSSA se vio aumento de NS a ERY, CLI y GEN. La aparente estabilidad en la NS a ERY, CLI, GEN observada en SAU global podría deberse a una compensación entre los perfiles de NS a estas drogas en MRSA y MSSA.

VI 018

0875 - ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE *ILEX PARAGUARIENSIS ST. HILAIRE* FRENTE A HONGOS LEVADURIFORMES

CHADE, Miriam Estela [1] | MERELES RODRIGUEZ, Beda Elizabeth[1] | VILLALBA, Cecilia[1] | NECHESNY KISZKO, Olga Gabriela[1] | KLEIN, Andres[1] | VIVOT, Walter[2] | FILIP, Rosana[3] | CORDOBA, Susana[2]

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICA Y NATURALES/UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES [1]; INEI-MICOLOGIA [2]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. FFYB. CATEDRA DE FARMACOGNOSIA [3]

Introducción y Objetivos: La resistencia a los antifúngicos es un problema complejo, multifactorial, que incluye factores inherentes a: 1-los fármacos (moléculas potencialmente tóxicas, poco activas), 2-los individuos (automedicación, interrupción de esquemas terapéuticos), y 3-los microorganismos (presencia de mutaciones). Estas realidades conllevan a un incremento en el interés por explorar otras opciones terapéuticas a través de la fitoterapia.

Materiales y Métodos: Fueron evaluadas 69 cepas del complejo *C. albicans*. La identificación de las levaduras se realizó con el equipo Maldi-Tof-MS. Las hojas de yerba mate provenían de cultivares del INTA Cerro Azul, provincia de Misiones. El extracto acuoso de las hojas de yerba mate se preparó por "decocción", según el método recomendado en la Farmacopea Nacional Argentina VIa Edición. Se determinó la CIM de fluconazol, itraconazol y yerba mate según el Documento EDEF 7.3.1 del EUCAST, el rango de concentraciones evaluadas fue 128-0,25 mg/L; 8-0,015 mg/L y 160-0,31 mg/L, respectivamente.

Resultados: Las 69 cepas fueron identificadas como *C. albicans* sensu stricto. Los valores de CIM50 y CIM 90 en mg/L fueron 0,032/0,125; 0,25/2 y 1,25/2,5 para itraconazol, fluconazol y yerba mate, respectivamente. Cinco cepas fueron resistentes al fluconazol (CIM 8-16 mg/L) y al itraconazol 0,125-0,5 mg/L) y fueron inhibidas por yerba mate en un rango de CIM 0,31-2,5 mg/L. El extracto acuoso de yerba mate mostró actividad inhibitoria con valores de CIM50 y CIM90 de 1,25 y 2,5 mg/L, respectivamente.

Conclusiones: No hay puntos de corte definidos para la yerba mate, no obstante, los valores de CIM que obtuvimos son aceptablemente bajos. La potencial utilidad de este producto vegetal de importancia regional nos alienta a continuar trabajando con extractos de yerba mate con la inclusión de un mayor número y diversidad de *Candida spp.*

VI 019

0882 - CLON DE "ALTO RIESGO" EN HOSPITAL DE CABA: *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ST307 PRODUCTOR DE LAS CARBAPENEMASAS KPC Y NDM

CEJAS, Daniela [1] | MAGARIÑOS, Francisco[2] | FERRARA, Micaela Magali[1] | ELENA, Alan[1] | ALFONSO, Claudia[2] | GUTKIND, Gabriel[1] | RADICE, Marcela[1]

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [1]; HOSPITAL DONACIÓN FRANCISCO SANTOJANNI [2]

Introducción y Objetivos: Las infecciones producidas por *K. pneumoniae* resistente a carbapenemes (KpRC) constituyen problema sanitario de primer orden. Estas presentan una elevada morbimortalidad especialmente en pacientes con estadía prolongada en UCI y expuestos a dispositivos invasivos. La producción de carbapenemasas es el principal mecanismo responsable de dicha resistencia, siendo KPC la enzima que se detecta con mayor frecuencia. Si bien desde el año 2010, el ST258 de K. pneumoniae productor de KPC (KpKPC) es endémico en nuestra región, en el año 2017 hemos detectado la emergencia de nuevos ST, algunos de ellos hipervirulentos como el ST25 y otros de "alto riesgo" como el ST307, el cual está asociado a niveles de mortalidad superiores al 50%. Los denominados clones de alto riesgo combinan características de hipervirulencia y resistencia. El objetivo de este trabajo fue estudiar los clones de KpRC circulantes en un hospital de la CABA e identificar el mecanismo responsable de dicha resistencia.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 7 aislamientos de *K. pneumoniae* resistentes a todos los ß-lactámicos recuperados de pacientes internados entre noviembre 2018 - marzo de 2019. Se determinó la sensibilidad a ciprofloxacina (CIP), levofloxacina (LEV), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), gentamicina (GEN) y amikacina (AKN) de acuerdo al CLSI. Se realizó la búsqueda de genes codificantes de las carbapenemasas VIM, IMP, SPM, NDM, KPC, OXA-48 por Multiplex-PCR utilizando ADN total como molde, según Poirel et al, 2011. Posteriormente se llevó a cabo la amplificación completa de los genes detectados en el ensayo anterior utilizando cebadores específicos y ADN plasmídico como molde. La tipificación molecular de KpRC se realizó por PFGE con la enzima XbaI y por MLST amplificando y secuenciando los genes gapA, infB, mdh, pgi, phoE, rpoB y tonB.

Resultados: Todos los aislamientos fueron resistentes a CIP, LEV y GEN; 4/7, 2/7 y 1/7 fueron resistentes, intermedios y sensibles a AMK, respectivamente. Dos aislamientos fueron resistentes a TMS. En el análisis genotípico 5/7 aislamientos fueron portadores de genes codificantes de carbapenemasas y correspondieron a los ST258 (n:1) y ST307 (n:4). Los 4 aislamientos KpRC-ST307 fueron sensibles a TMS, 3 de ellos fueron portadores de bla_{KPC}-3 y bla_{NDM}; y 1 fue portador sólo de bla_{KPC}-3. En KpRC-ST258, resistente a TMS, se detectó bla_{KPC}-2 y bla_{NDM}.

Conclusiones: De manera preocupante, se observa una mayor circulación del clon de "alto riesgo" KpnST307 productor de KPC-3, evidenciado las propiedades de este microorganismo de persistencia, prevalencia y diseminación en los centros de salud. A su vez, en 3 de estos aislamientos se detectó la co-portación de KPC y NDM. Si bien la caracterización completa del plásmido portador de bla_{NDM} se encuentra en proceso, su presencia en distintos linajes (ST258 y ST 307) permite inferir sobre sus características epidémicas.

VI 020

0894 - PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE EXTRACTOS ETANOLICOS DE HOJAS DE *PSIDIUM GUAJAVA L.* Y *EUGENIA UNIFLORA L.* SOBRE BACTERIAS PORTADORAS DE MECANISMOS DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS

NOVOSAK, Marina Gisel [1] | LACZESKI, Margarita Ester[2] | YAÑUK, Danila[2] | BOBADILLA, Fernando Javier[1] | KACHUK, Analía Vanesa[2] | WINNIK, Daniana Lilian[2] | OVIEDO, Patricia Noemí[2] | PEGELS, Eduardo Raúl[2] | QUIROGA, Marina Inés[1]

FCEQYN-UNAM/INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA DE MISIONES "DRA. EBE RECCA" [1]; FCEQYN, UNAM [2]

Introducción y Objetivos: Las plantas medicinales de la flora autóctona misionera podrían constituir un valioso recurso para hallar productos naturales efectivos frente a las infecciones producidas por bacterias resistentes de importancia clínica. El objetivo del trabajo fue estudiar las propiedades antimicrobianas de extractos etanólicos de hojas de *Psidium guajava* L. y *Eugenia uniflora* L. sobre bacterias resistentes a antibióticos.

Materiales y Métodos: Los extractos fueron obtenidos por digestión controlada a 37ºC durante 48 h y conservados en desecador. Se trabajó con Klebsiella pneumoniae productora de BLEE tipo CTX-M (Kpn BLEE tipo CTX-M), Pseudomonas aeruginosa productora de metalo-ß-lactamasa (MBL) tipo VIM (Pae MBL tipo VIM) , Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasa tipo KPC (Kpn KPC), *Providencia rettgeri* productora de MBL tipo NDM, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (SAMR), y *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 (EVR Van B) y las cepas sensibles *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La actividad antimicrobiana se estudió por técnica de difusión en agar Müller-Hinton (MH) utilizando discos de papel de filtro Whatman Nº 2 de 6 mm de diámetro con 30 µL de extracto (0,1 g mL^{-1}) y dimetil sulfóxido como control negativo. Los ensayos se realizaron por triplicado. Se evaluó la presencia de sinergismo o antagonismo entre los extractos vegetales y antibióticos comerciales, ubicando los discos a una distancia de 20 mm borde a borde. Cefotaxima y ceftazidima se utilizaron para cepas productoras de BLEE, imipenem y meropenem para las productoras de carbapenemasas/MBL, cefoxitina y cefalotina para SAMR y vancomicina para la cepa EVR Van B. Los ensayos se realizaron por duplicado. Todas las lecturas se realizaron luego de 18-24 h de incubación.

Resultados: Con el extracto etanólico de *Eugenia uniflora* L. se observó actividad antimicrobiana frente a *P. rettgeri* productora de MBL tipo NDM (15,66 mm - DS 1,52), SAMR (16,33 mm - DS 0,57), S.aureus ATCC 25923 (17 mm - DS 1), EVR Van B (9,66 mm - DS 1,15), Pae MBL tipo VIM (9,33 mm - DS 1, 52) y P.

aeruginosa ATCC 27853 (10 mm - DS 1,73). Mientras que con Psidium guajava L. dicha actividad se presentó frente a P. rettgeri productora de MBL tipo NDM (9,33 mm - DS 0,57), SAMR (10 mm - DS 0), EVR Van R (9,66 mm - DS 1,15) y S. aureus ATCC 25923 (12 mm - DS 1,73) no evidenciándose actividad frente a Pae MBL tipo VIM y P. aeruginosa ATCC 27853. Ninguno de los extractos mostró actividad frente a Kpn BLEE tipo CTX-M, Kpn KPC y E. coli ATCC 25922.No se observaron efectos de sinergia o antagonismo.

Conclusiones: Los resultados son promisorios en la búsqueda de alternativas terapéuticas y requieren estudios que permitan la identificación y caracterización de los principios activos asociados a la actividad antimicrobiana observada.

VI 022

0906 - PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *MORGANELLA MORGANII* STRAINS ISOLATED FROM RAW AND TREATED SEWAGE AT SÃO PAULO, BRAZIL

JORGE, Michelle L. | RIBEIRO, Isabella | SILVA, Jéssica S. B. | RAZZOLINI, Maria Tereza P. | **DROPA, Milena**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP)

Introduction and objectives: Bacterial resistance evolves due to the selective pressure of antimicrobial use in clinical settings and other activities, and frequently spreads through nature via inadequate disposal of sewage. Morganella morganii belongs to the family Enterobacteriaceae and is widely distributed in nature, commonly found in the environment and belonging to the human and animals' intestinal microbiota. It is considered an opportunistic pathogen that causes mainly urinary tract infections and is commonly isolated from patients admitted to hospital ICUs, usually related to postoperative infections. Emergent resistance in Enterobacteriaceae is a problem that needs attention, especially the production of β-lactamases and resistance to other classes of antibiotics, leading to the emergence of multidrug resistant or even pan-resistant species. Considering the relevance of evaluating the distribution of antimicrobial resistance in the environment and how anthropic actions affect this scenery, this study aimed to assess the presence of resistance encoding genes in Morganella morganii strains isolated from several sewage sources.

Materials and methods: 121 sewage samples were collected from human and veterinary hospitals, an animal husbandry and from Sewage Treatment Plants (STP), including raw sewage, treated effluents and reuse water. Samples were filtered through 0.45µm membranes, cultivated overnight, and resistant strains were selected on MacConkey broth containing antibiotics. After identification by MALDI-TOF/MS and resistance phenotypic screening, total DNA extraction was carried out and the genes were searched by conventional PCR.

Results: Forty-nine Morganella morganii isolates were identified, from which 7 (14.3%) presented ESBL phenotype, 14 (28.6%) were resistant to fluoroquinolones, 15 (30.6%) to aminoglycosides, 32 (65.3%) to tetracyclines, 20 (40.8%) to fosfomycin and 41 (83.7%) to colistin. The following genes were detected by PCR: blaCTX-M-1 (n=4) at human hospital, veterinary hospital and treated effluent; qnrA (n=3) at human hospital and animal husbandry; qnrB (n=2) at treated effluent; qnrD (n=5) at animal husbandry, raw sewage and treated effluent; qnrS (n=5) at veterinary hospital, animal husbandry and treated effluent; aac-6'-1b-cr (n=8) at human hospital, animal husbandry and treated effluent; rmtG (n=2) at veterinary hospital and treated effluent; tetA(n=10) at veterinary hospital, animal husbandry and treated effluent; tetM (n=5) at veterinary hospital, raw sewage and treated effluent; fosA3 (n=5) at animal husbandry.

Conclusions: Results show that *Morganella morganii* strains present in raw and treated sewage in São Paulo carry several antimicrobial resistance determinants. This shows a deficiency in sewage treatment especially regarding the removal of ARGs, showing a worrying scenario, since resistant strains of *Morganella morganii* will be discarded in water bodies and restart their propagation cycle, representing a potential risk of human exposure.

VI 023

0910 - IDENTIFICATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES IN *PROVIDENCIA SPP.* ISOLATED FROM RAW AND TREATED SEWAGE AT THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL

RIBEIRO, Isabella | JORGE, Michelle L. | SILVA, Jéssica S. B. | RAZZOLINI, Maria Tereza P. | **DROPA, Milena**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP)

Introduction and objectives: Bacterial resistance is facilitated by the selective pressure of antimicrobial use for therapeutic purposes and in other activities, such as agriculture and livestock, and it can be disseminated trough nature by inadequate disposal of sewage. The presence of antimicrobial resistant microorganisms in

environmental sources is an emerging concern with potentially serious implications for public health, and sewage can be a hotspot for resistance and genetic interchange among bacteria. The aim of this study was to evaluate the presence of antimicrobial resistance genes in bacteria of the genus Providencia spp., isolated from sewage samples of several sources.

Materials and methods: Sewage samples (n=121) from human and veterinary hospitals, an animal husbandry and from Sewage Treatment Plants (STP), including raw sewage, treated effluents and reuse water, were collected monthly for one year, and concentrated by filtering membrane. Cultured microorganisms present in the samples were identified by MALDI-TOF/MS, and 51 Providencia spp. isolates were selected for this study. Antimicrobial susceptibility was assessed by disk-diffusion, and resistance-encoding genes were searched by PCR for: ESBL (blaCTX-M-1, 2, 8 and 9), plasmidial AmpC beta-lactamase CMY, PMQR (qnrA, B, C, D and aac-6'-1b-cr), RNA-methylases (rmtA, B, D, G), tetracyclines resistance (tetA, B, M), fosfomycins resistance (fosA and fosA3) and phosphoetanolamine-transferases (mcr 1, 2, 3).

Results: One ESBL-producing strain was identified in a STP raw sewage sample, although none of the resistance genes surveyed were detected. Five strains carrying quinolone resistance genes were also found: qnrD (n=1) at animal husbandry, aac-6'-1b-cr (n=3) at animal husbandry and STP raw sewage, and one strain from animal husbandry co-transported qnrA and aac-6'-1b-cr genes. In addition, two aminoglycoside-resistant strains carried rmtG (n=1, treated sewage from veterinary hospital) and rmtB (n=1, animal husbandry). Eleven strains were resistant to tetracyclines, from which six carried tetA gene and six carried tetM, isolated from animal husbandry, veterinary hospital (treated sewage) and STP raw sewage and treated effluent. Four strains from the animal husbandry were resistant to fosfomycin and carried fosA3 gene, and a colistin-resistant strain from the STP treated effluent carried a putative mcr2 gene.

Conclusions: In conclusion, several antimicrobial resistance genes were present in this collection of Providencia spp. isolated from sewage generated by different sceneries. As treated or untreated sewage is eventually released in nature, it reaches and contamines water bodies, and potentially spreads resistance through supply and recreational waters, leading to human exposure and ecology unbalance.

VI 024

0919 - METODO COLISTIN AGAR-SPOT E INHIBICION CON EDTA PARA LA DETECCION DE *ESCHERICHIA COLI* PORTADORA DE MCR-1

GONZALES ESCALANTE, Edgar | DI CONZA, Jose | GUTKIND, Gabriel

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Introducción y Objetivos: La colistina es considerada un antibiótico de última línea para el tratamiento de infecciones por gram negativos multirresistentes. Si bien ya era conocida la resistencia cromosómica obtenida por mutaciones en genes que participan o regulan la síntesis del lípido A, en 2015, aparecieron los primeros informes sobre resistencia a colistina mediada por plásmidos, codificados por el gen mcr-1 (Mobile Colistin Resistance). Como la enzima MCR depende de zinc para su actividad, la quelación de este ion podría inhibirla. De ello se postula que las pruebas de inhibición con EDTA podrían ser útiles para su detección. En este estudio, evaluamos un ensayo basado en el método de screening Colistin Agar-Spot y la inhibición de la actividad de mcr-1 mediante EDTA.

Materiales y Métodos: Se analizaron 54 aislamientos de enterobacterias: Escherichia coli resistentes a colistina portador de mcr-1 (n=30), *Klebsiella pneumoniae* resistente a colistina carente de mcr-1 (n=8) y *E. coli* sensibles a colistina (n=15); los aislamientos fueron recuperados de humanos y animales. Se incluyeron *Serratia marcescens* con resistencia natural a colistina (n=1) y *E. coli* ATCC 25922. El ensayo de screening Colistin Agar-Spot (Placa A: Mueller-Hinton con 3µg/ml de colistina) se realizó siguiendo las recomendaciones del servicio de antimicrobianos INEI ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"; además, se preparó una placa adicional de Colistin Agar-Spot a la que se le agregó una concentración final de EDTA de 1 mM, (Placa B: Mueller-Hinton con colistina 3µg/ml + EDTA 1mM). Se utilizó una placa de Mueller-Hinton con EDTA como control de crecimiento (Placa C: Mueller-Hinton con EDTA 1mM). Se evaluó el desarrollo de colonias sobre las placas luego de 18h de incubación a 35°C.

Resultados: Todos los aislamientos resistentes a colistina mostraron desarrollo de más de 1 colonia en las placas de Colistin Agar-Spot (Placa A); a su vez, las K. pneumoniae resistente a colistina sin mcr-1 y S. marcescens, mostraron desarrollo de colonias en la placa B mientras que en las E. coli resistentes a colistina productoras de MCR-1, no desarrollaron en las placas de Colistin Agar-Spot suplementado con EDTA (placa B). Como era de esperar, las E. colisensibles a colistina no mostraron desarrollo en ninguna de las placas con colistina. En las placas de Mueller-Hinton con EDTA (Placa C) desarrollaron todas las bacterias analizadas. Este ensayo combinado (placa A + B) mostró 100% de sensibilidad y especificidad para la detección de *E. coli* productoras de MCR-1.

Conclusiones: En conclusión, nuestros resultados sugieren que los ensayos de Colistin Agar-Spot suplementado con EDTA comparándolo al método de screening Colistin Agar-Spot podría proporcionar un método simple y de fácil interpretación para diferenciar E. coli productora de MCR-1 de aquellos

microorganismos resistentes colistina por otros mecanismos. Sin embargo, son necesarios estudios adicionales con un mayor número de aislamientos para confirmar la precisión de esta metodología.

VI 025

0934 - PERFIL DE SENSIBILIDAD DE ENTEROBACTERIAS RESISTENTES A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACIÓN AISLADAS DE UROCULTIVOS AMBULATORIOS. COMPARACIÓN 2010 - 2017

BONESI, Lucila [1] | BERMEJO, Joaquin[2] | BISSIO, Emiliano[1] | MAIZTEGUI, Cynthia[1] | MERKT, Mariela[1] | MUJICA, Lucrecia[1] | RISELI, Virginia[1] | SUCARI, Adriana[1] | PENNINI, Magdalena[1]

UNIDAD MICROBIOLOGÍA, STAMBOULIAN LABORATORIO [1]; HOSPITAL ESPAÑOL ROSARIO [2]

Introducción y Objetivos: En los últimos años, las bacterias productoras de beta- lactamasas de espectro extendido (BLEE) han tomado mayor relevancia en pacientes ambulatorios con infección urinaria (IU). Los tratamientos se dificultan ya que estos microorganismos presentan resistencia (R) a la mayoría de los antimicrobianos (ATB) por vía oral. Es por esto que es importante conocer las alternativas terapéuticas no endovenosas en enterobacterias con R a cefalosporinas de tercera generación (C3G) de IU. El objetivo del trabajo es evaluar la sensibilidad (S) in vitro de las enterobacterias más prevalentes, aisladas de urocultivos en pacientes adultos ambulatorios con R a C3G, y realizar un análisis comparativo de los años 2010 y 2017.

Materiales y Métodos: Se realizó un análisis retrospectivo de los años 2010 y 2017 de las 3 enterobacterias más prevalentes aisladas de urocultivos de pacientes adultos ambulatorios con IU: *Escherichia coli* (Eco), *Klebsiella pneumoniae* (Kpn) y *Proteus mirabilis* (Pmi). Se seleccionaron aquellos aislamientos R a C3G analizando la S in vitro frente a ciprofloxacina (CIP), gentamicina (GEN), nitrofurantoína (NIT), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) y ertapenem (ERT). Dicha S fue determinada mediante el método de difusión por discos y/o método automatizado Phoenix 100 BD®. Los puntos de corte fueron analizados según CLSI vigente. Se realizó un análisis estadístico de los datos.

Resultados: De los 2888 aislamientos analizados en el año 2010, 2449 (84.8%) fueron identificados como Eco, 272 (9.4%) Kpn y 167 (5.8%) Pmi. Del total, 148 (5.1%) fueron resistentes a C3G: 96 (64.8%) Eco, 44 (29.7%) Kpn y 8 (5.4%) Pmi. En el año 2017, se analizó un total de 3819 aislamientos de los cuales 3301 (86.4%) fueron identificados como Eco, 341 (8.9%) Kpn y 177 (4.6%) Pmi. Del total, 394 (10.3%) fueron resistentes a C3G: 302 (76.6%) Eco, 78 (19.8%) Kpn y 14 (3.6%) Pmi. Se observa un marcado incremento de la R a C3G del año 2017 frente al 2010, 10.3% a un 5.1%, respectivamente (p=0,0001) y un aumento de la R frente a ERT, 2.7% en 2010 vs 10.5% en 2017 (p=0.004) siendo más evidente en Eco donde la R aumenta de 0% en 2010 a 7.3% en 2017 (p=0.006). También Eco presenta un aumento de la R a GEN: 28.1% (2010) vs 39.4% (2017), p=0.04. No se evidenció diferencia significativa de la S in vitro en el resto de los antibióticos analizados entre los dos periodos, siendo los % de S en Eco en 2017: NIT 84.1%, GEN 61.5%, TMS 26.5% y CIP 17.5%.

Conclusiones: Frente al aumento significativo de R a C3G de las bacterias más prevalentes en infecciones urinarias de la comunidad, es necesario buscar alternativas útiles para el tratamiento ambulatorio. El ATB más activo fue ERT, de administración intramuscular, aunque se evidenció una disminución significativa de la S entre 2010 y 2017, probablemente debido al incremento de su utilización en pacientes ambulatorios. Nitrofurantoína posee elevada S en Eco pero su utilidad se limita a IU no complicada de la comunidad. Es importante continuar vigilando la S a los ATB de primera línea debido al incremento de R documentado.

VI 026

0936 - ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO Y MENTA CONTRA BACTERIAS PRODUCTORAS DE MASTITIS BOVINA: RESULTADOS PRELIMINARES

PRIETO, María Cecilia [1] | AYOUB, Ibrahim[2] | LAMBIR JACOBO, Ana Judith[2] | VÁZQUEZ, Carolina[2] | ASENSIO, Claudia Mariana[1] | LUCINI, Enrique Iván[2] | GROSSO, Nelson Rubén[1] | MARTÍNEZ LUQUE, Luciana[2]

INSTITUTO MULTIDISCIPLINARIO DE BIOLOGÍA VEGETAL (CONICET-UNC) [1]; FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [2]

Introducción y Objetivos: La mastitis es la enfermedad infecciosa más costosa de la industria láctea, ya que afecta la productividad y calidad de la leche, y es la causa más frecuente de uso de antibióticos en tambos. Puede ser causada por infecciones bacterianas producidas por Staphylococcus aureus y Escherichia coli, que generan estadíos subclinicos y clínicos de la enfermedad. Para disminuir su incidencia es necesaria una correcta higiene posterior al ordeñe, así como la utilización de productos antimicrobianos que reduzcan la exposición del canal del pezón a la entrada de patógenos. Por este motivo, incorporar el uso de aceites esenciales (AEs) reconocidos por sus propiedades antibacterianas y por ser seguros para la salud, puede ser una herramienta

novedosa en la prevención de la enfermedad. En este trabajo se estudió la actividad antibacteriana de los AEs de menta (Mentha x piperita) y Orégano (Origanum vulgare) contra S. aureus y E.coli.

Materiales y Métodos: Los AEs de Menta (AEm) y Orégano (AEo) se obtuvieron por hidrodestilación. Su composición química se analizó mediante CG-MS. La actividad antibacteriana contra *E.coli* y *S. aureus* se estudió utilizando la técnica de microdilución en caldo. Para ello AEs fueron diluidos en dimetilsulfóxido y se realizaron nueve diluciones seriadas en caldo Müller-Hinton (MH). Cultivos bacterianos en caldo MH, con una densidad de inóculo incapaz de reducir al indicador resazurina, fueron suplementados con una solución de AE y se incubaron durante 20 h a 30°C. Se aplicó resazurina (0.01%) y se incubó durante 4 h más a 30°C. El resultado se visualizó por cambio de color de azul (oxidado) a rosa (reducido), siendo la concentración inhibitoria mínima (CIM) la máxima dilución que permaneció azul. La concentración bactericida mínima (CBM), se determinó sembrando en agar-MH los pocillos que permanecieron azules. Las placas se incubaron durante 24 h a 30°C. La CBM fue la mínima concentración de aceite a la cual no hubo crecimiento bacteriano.

Resultados: En AEm los principales compuestos fueron mentol (40.12%) y mentona (24.17%), mientras que en AEo fueron trans-sabineno hidratado (18.61 %), timol (18.06%), ɣ-terpineno (11.67 %) y o-cimeno (6.78%). El AEo presentó una mayor actividad antibacteriana (CIM: 0,914 g/L, CBM: 2,437 g/L contra S. aureus y CIM: 1,830 g/L y CBM: 2,437 g/L contra E. coli) en relación con AEm (CIM: 2,409 g/L, CBM: 3,614 g/L contra S. aureus y CIM: 3,614 g/L y CBM: 3,656 g/L contra *E. coli*). Esto podría deberse a la abundancia de timol, compuesto que ha sido reconocido por su efectividad como bactericida. En cambio, en AEm los mayores componentes (mentol y mentona) poseen una actividad antimicrobiana moderada a baja. Ambas especies de bacterias resultaron afectadas los AE, siendo la de mayor susceptibilidad S. aureus.

Conclusiones: Los AEs demostraron ser promisorios como controladores de *E. coli* y *S. aureus*, por lo que podría resultar de gran interés su utilización durante la higiene posterior al ordeñe a fin de evitar la aparición de mastitis.

VI 027

0944 - EFICACIA IN VITRO DE ACEITES ESENCIALES FRENTE A ESPECIES DE LOS COMPLEJOS *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS/CRYPTOCOCCUS GATTII* DE ORIGEN CLÍNICO

CORDOBA, Susana [1] | TAVERNA, Constanza[1] | VIVOT, Walter[1] | VIVOT, Matias[1] | SZUSZ, Wanda[1] | ARIAS, Barbara[1] | ALBO, Graciela[2]

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS AGUDAS "DR. C. G. MALBRAN" [1]; FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES, UNLP [2]

Introducción y Objetivos: Las especies de los complejos Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii son agentes causales de infecciones severas, de pronóstico reservado, cuando ocurre el fracaso terapéutico el desenlace suele ser fatal. Los antifúngicos indicados para el tratamiento, la anfotericina B y el fluconazol son potencialmente tóxicos y no siempre son eficaces. Los aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas muestran actividad antimicrobiana frente a un amplio espectro de microorganismos, aunque hay pocos estudios en los que se evalúe la eficacia en Cryptococcus sp. aislados de muestras clínicas. Objetivo: evaluar la eficacia in vitro de aceites esenciales, extraídos de plantas aromáticas, en levaduras de los complejos C. neoformans/C. gattii de origen clínico.

Materiales y Métodos: Se estudiaron: n=22 C. neoformans (VNI) y n=16 *C. gattii* (VGI=6, VGII=9 y VGIII=1) obtenidos de pacientes con distintas manifestaciones clínicas de criptococosis y que fueron identificados previamente por identificación convencional y genotipificados por PCR-RFLP del gen URA5.

Resultados: La anfotericina B inhibió el desarrollo de ambos complejos de especies con CIM90 <= 1 mg/L, mientras que el fluconazol fue menos activo con una CIM50 de 16 mg/L. Para los complejos *C. neoformans/C. gattii*, los aceites esenciales más eficaces fueron *C. citratus*, con CIM90 de 12,5/12,5 mg/L, seguido por L. a. linalol 100/100 mg/L y M. piperita 200/100 mg/L, respectivamente. Mientras que los menos activos fueron *L. nobilis* 200/800 mg/L y *C. officinalis* 800/800 mg/L.

Conclusiones: Este estudio in vitro confirma la actividad antifúngica de al menos tres de los cinco aceites esenciales evaluados, los que pudieron inhibir el desarrollo de todos los aislados evaluados, aún aquellos con sensibilidad disminuida frente al fluconazol. Los aceites esenciales pueden ser una potencial fuente de principios bioactivos útiles para controlar infecciones causadas por especies de los complejos *C. neoformans/C. gattii*.

VI 028

0956 - EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN EXTRACTO DE YERBA MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*) FRENTE A UNA CEPA DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7

BERENGENO, Andrea Lorena [1] | MARELLI, Belkis Ester[1] | SALINAS, Facundo José[1] | GARCÍA LÁZARO, Rocío[2] | ALONSO, Daniel Fernando[2] | FARINA, Hernán Gabriel[2] | ORTEGA, Hugo Héctor[1]

CENTRO DE MEDICINA COMPARADA, ICIVET-LITORAL, UNL / CONICET [1]; LABORATORIO DE ONCOLOGÍA MOLECULAR, DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, UNQ / CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Las plantas medicinales o extractos vegetales naturales como agentes terapéuticos han sido utilizadas desde la antigüedad como un recurso invaluable para preservar la salud. En la actualidad, la búsqueda de nuevos agentes antibacterianos es una problemática de alto impacto socioeconómico a nivel mundial. Por ello, el diseño de nuevas estrategias basadas en el aprovechamiento de productos naturales, como extractos de plantas contra distintos microorganismos de interés sanitario representa una oportunidad prometedora como tratamiento fitoquímico alternativo. *Escherichia coli* es una bacteria que habita comúnmente en el sistema digestivo de animales de sangre caliente y seres humanos. Algunas cepas de *E. coli* son patógenas, entre ellas *E. coli* O157:H7, la cual es responsable de graves intoxicaciones alimentarias que puede llegar a provocar la muerte. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antibacteriana *in vitro* de un extracto de yerba mate frente a una cepa de *E.coli* O157:H7.

Materiales y Métodos: El extracto de yerba mate fue producido por la empresa Rocimel S.A., a partir de hojas secas de *Ilex paraguariensis* provenientes de la provincia de Misiones mediante extracción por maceración acuosa y secado spray. Para determinar su actividad antimicrobiana, se utilizó la cepa de *E. coli*O157:H7 (746) productora de toxina Shiga. Inóculos de 1 $x10^10$ UFC/ml de *E. coli* 0157:H7 (746) fueron expuestos a 0 (control), 2, 10, 50, 100, 150 y 200 mg/ml del extracto de yerba mate. A los tiempos 0, 6, 18, 24 y 36 h, la viabilidad bacteriana se determinó mediante el método de recuento en placa por siembra en superficie, por duplicado.

Resultados: Las concentraciones correspondientes a 2, 10, 50, 100 mg/ml del extracto de yerba mate no mostraron efectos significativos sobre la viabilidad bacteriana a lo largo del tiempo. Concentraciones de 150 y 200 mg/ml del extracto de yerba mate fueron capaces de inhibir el crecimiento de la cepa de *E.coli* O157:H7 (746) evidenciando una reducción significativa a los tiempos de 6, 18, 24 y 36 h respecto del control ($p<0.01$). Particularmente, a las 6 h del tratamiento con 150 y 200 mg/ml de extracto de yerba mate, se observó una disminución significativa de 3 y 4 log respectivamente en el crecimiento bacteriano ($p<0.001$). La máxima capacidad inhibitoria de dichas concentraciones del extracto de yerba mate se detectó a las 36 h con una reducción significativa de 4 y 6 log respectivamente ($p<0.001$).

Conclusiones: Los resultados de este estudio demuestran la potencialidad del extracto acuoso de yerba mate como un candidato promisorio para ser utilizado como antimicrobiano terapéutico. Futuros trabajos sobre otros grupos bacterianos de importancia médica permitirán elucidar nuevos blancos de acción del extracto acuoso de yerba mate para potenciales tratamientos antibacterianos.

VI 029

0993 - PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS DE AISLAMIENTOS DE SALMONELLA DE ORIGEN PORCINO

JOAQUIM, Patricia [1] | HERRERA, Mariana[2] | ORELLA, Gustavo[3] | BARBANO, Pablo[4] | CHACANA, Pablo[1]

INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA, CICVYA – INTA [1]; SENASA [2]; VETANCO S.A. [3]; AER LUJAN - INTA [4]

Introducción y Objetivos: La salmonelosis es una enfermedad enterica con importancia tanto en Salud Pública como en salud animal representando la segunda zoonosis de origen alimentario a nivel mundial luego de las campilobacterias termofílicas. Es una de las infecciones más comunes en las explotaciones porcinas y puede causar importantes pérdidas económicas. En la actualidad los antimicrobianos son utilizados ampliamente en la producción animal, no sólo para tratar enfermedades bacterianas sino también como promotores de crecimiento. El uso indiscriminado de los antimicrobianos favorece la emergencia de cepas multirresistentes que pueden generar serios inconvenientes en la producción amenazando directa e indirectamente a la Salud Pública. En el contexto de esta problemática, el objetivo de este trabajo fue determinar los perfiles de susceptibilidad a antimicrobianos de salmonelas aisladas a partir de granjas porcinas en Argentina.

Materiales y Métodos: El análisis de susceptibilidad a los antimicrobianos se llevó a cabo sobre 68 aislamientos de Salmonella obtenidos durante el periodo 2016-2018, De todos los aislamientos, 38 fueron obtenidos a partir de granjas de producción intensiva, semi-extensiva o familiar ubicadas en diferentes localidades de la República Argentina, y los 30 restantes fueron aislados a partir de órganos internos de cerdos sacrificados en matadero. Se determinó el perfil de susceptibilidad a antimicrobianos mediante la metodología de Kirby-Bauer (método de difusión en agar). Los antibióticos evaluados pertenecían a las familias de betalactámicos, aminoglucósidos, péptidos, macrólidos, fenoles, tetraciclinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas, pleuromutilinas y quinolonas.

Resultados: Se observó que menos del 6% de todos los aislaminetos de Salmonella presentó resistencia a las cefalosporinas de 1era, 2da, 3era y 4ta generación, colistina, imipenem y aztreonam. El 100% mostró resistencia a tilosina, tiamulina y eritromicina. El porcentaje de susceptibilidad frente a los demás antimicrobianos analizados fue variable. Sin embargo, todos los aislamientos fueron resistentes a por lo menos 3 de los antimicrobianos evaluados y los aislamientos provenientes de producciones intensivas presentaron mayores niveles de resistencia que los aislamientos provenientes de producciones mixtas o familiares.

Conclusiones: El conocimiento de la prevalencia y resistencia a antimicrobianos de las cepas de Salmonella circulantes en la producción porcina es fundamental para poder implementar planes de control del patógeno, que garanticen la productividad y la inocuidad de los alimentos. Un alto porcentaje de los aislamientos analizados fueron sensibles a las cefalosporinas de segunda y cuarta generación, por lo tanto podrían ser los antimicrobianos de elección para el tratamiento de infecciones por Salmonella. Sin embargo, es fundamental conocer el perfil de susceptibilidad a antimicrobianos de cada una de las cepas aisladas en las diferentes granjas concientizando a los distintos actores de la cadena porcina sobre la importancia del uso racional de los antimicrobianos.

VI 030

0996 - *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE*. ESTUDIO MULTICÉNTRICO DE LA ACTIVIDAD IN VITRO DE 15 ANTIBIÓTICOS

ROLLET, Raquel [1] | VAUSTAT, Daniela[1] | LITTERIO, Mirta Rosa[2] | PREDARI, Silvia[3] | FERNANDEZ CANIGIA, Liliana[4] | CASTELLO, Liliana[3] | BARBERIS, Claudia[5] | LEGARIA, María Cristina[5] | MALDONADO, Maria Laura[2] | PEREYRA, Ana[6] | ROSSETTI, Adelaida[7]

HOSPITAL MUÑIZ [1]; HOSPITAL DE PEDIATRÍA "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN" [2]; DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MÉDICAS A. LANARI, UBA. [3]; HOSPITAL ALEMÁN [4]; HOSPITAL DE CLÍNICAS "JOSÉ DE SAN MARTÍN" [5]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS [6]; HOSPITAL [7]

Introducción y Objetivos: *Clostridioides difficile* es la principal causa de diarrea asociada al cuidado de la salud y el uso previo de antibióticos (ATB) es un factor de riesgo. Los tratamientos se realizan con vancomicina (VAN) y metronidazol (MTZ) pero, hay registros de sensibilidad disminuida, multirresistencia, fracasos terapéuticos y recidivas. OBJETIVOS 1. Estudiar la sensibilidad antibiótica de *C. difficile* frente a agentes utilizados en el tratamiento y/o con impacto epidemiológico; en particular, detectar resistencia a fluoroquinolonas y a rifamicinas. 2. Comparar la resistencia entre los Centros.

Materiales y Métodos: ATB probados: azitromicina (AZI), clindamicina (CLI), ertapenem (ERT), imipenem (IMI), levofloxacina (LEV), linezolida (LIN), meropenem (MER), MTZ, moxifloxacina (MOX), piperacilina-tazobactama (PTZ), rifampicina (RFP), rifaximina (RFX), teicoplanima (TEI), tigeciclina (TIG) y VAN. Se estudiaron 126 aislados sucesivos (91 para RFX y 94 para CLI) obtenidos de las heces de pacientes con diarrea asociada a *C. difficile* (DACD), de seis Centros. Las pruebas de sensibilidad se hicieron por el método de dilución en agar (CLSI M100). Se usaron puntos de corte (PC) de CLSI M100 29ed y EUCAST. Para TIG, PC epidemiológico. RFP y RFX se categorizaron como resistentes o no resistentes (NoR) (Reigadas, 2017) Se calcularon CIM50, CIM90, % de resistencia (R) y de sensibilidad (S), según los PC disponibles y los % de R de cada Centro.

Resultados: Los respectivos valores de CIM50, CIM90, % de S y de R, de cada ATB fueron: AZI(>128;>128µg/ml), CLI(8;>64µg/ml)(29,8; 56,4%), ERT(4;8µg/ml)(23,8; 38,9%), IMI(8;16µg/ml)(10,3; 50,8%), LEV (64;>64µg/ml), LIN(1;4µg/ml), MER(2;4µg/ml)(58,9; 0,8%), MTZ(0,5;1µg/ml)(100;0%), MOX (16;32µg/ml)(38,9; 55,56%), PTZ(8;16µg/ml) (93,7; 0%), RFP(16;64µg/ml) (NoR: 58,9; 41,1%), RFX (128;>128µg/ml)(NoR: 41,8; 58,2%), TEI(<=0,03; <=0,03µg/ml), TIG(0,06;0,25µg/ml)(96;0%) y VAN(<=0,03;0,06µg/ml)(100;0%) El 29,3% (27/92) de los aislados presentó R simultánea a RFP, CLI y MOX. La R (entre cinco Centros) a RFP varió entre 14,8 y 72,2%; a IMI entre 22,2 y 68,4 y a MOX entre 25,9 y 97,2%.

Conclusiones: -Todos los aislados fueron ampliamente S a VAN y MTZ, agentes de 1ra. elección para el tratamiento de la DACD. -TIG también mostró buena actividad in vitro. -La actividad de RFX, concuerda con la de RFP. La R a ambos agentes se relaciona al Centro de procedencia y fue mayor en aquellos en los que el uso de RFP está difundido. También varió la R a IMI y a MOX entre los Centros y destacamos las discrepancias entre los carbapenems que amerita estudios complementarios. -Los altos % de R a IMI y ERT pueden estar relacionados a los recientes cambios en los PC y a la variabilidad del método. -El hallazgo de multirresistencia alerta sobre la posible circulación de RT 027 y 017, y avala próximos estudios de epidemiología molecular. -El conocimiento de la resistencia antibiótica de *C. difficile*, permitirá considerar nuevos tratamientos y evaluar su impacto en la emergencia y control de brotes.

VI 031

1008 - RIESGO DE SUFRIR INFECCIÓN URINARIA CAUSADA POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETA-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN LA COMUNIDAD

GONZALEZ, Marcela Susana

SERVICIO DE MICROBIOLOGIA DE LABORATORIO MANLAB

Introducción y Objetivos: Las infecciones del tracto urinario (ITUs) se encuentran entre las infecciones más frecuentes. Las enterobacterias productoras de beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) se diseminaron rápidamente y a nivel global, tanto en hospitales como en la comunidad, limitando las opciones terapéuticas. Dada la alta incidencia de las infecciones urinarias en la comunidad, la alta prevalencia de cepas productoras de BLEE a nivel mundial y la falta de datos a nivel regional, el objetivo del presente trabajo es conocer la prevalencia de BLEE en infecciones urinarias de la comunidad, diferenciando 2 poblaciones heterogéneas en cuanto a factores de riesgo: los pacientes asociados a la comunidad y los pacientes asociados a cuidados de la salud.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio observacional prospectivo de junio a diciembre de 2014. Se analizaron 11400 muestras de orina de pacientes ambulatorios de todas las edades pertenecientes a la Obra Social de Empleados de Comercio y Actividades Civiles (OSECAC) de junio a diciembre de 2014. La población estudiada comprende a pacientes no hospitalizados, siendo la mayoría de ellos propiamente de la comunidad pero también incluye a pacientes asociados a cuidados de la salud. Las muestras fueron sembradas semi-cuantitativamente en medios adecuados y se observó el sedimento post-centrifugación. Aquellos cultivos positivos para infección urinaria fueron identificados y se les realizó antibiograma por el método de difusión, buscando además la presencia de BLEE. Se calculó el riesgo relativo (RR) y el riesgo absoluto (RA) de padecer infección urinaria por cepa productora de BLEE con un intervalo de confianza (IC) del 95%. Se utilizó el Chi cuadrado y el test exacto de Fisher para comparar las variables. Todos los valores de p fueron de 2 colas y una $p<0.05$ fue considerada estadísticamente significativa. En cuanto a las BLEE, se analizó su distribución y porcentaje de resistencia a antibióticos beta-lactámicos y no beta-lactámicos dentro de cada grupo poblacional.

Resultados: De las 11400 muestras de orina recibidas, 1417 muestras (12%) fueron incluidas en el estudio, 1141(80.5%) fueron clasificadas como AMB y 276 (19.4%) como ACS. El uropatógeno más frecuentemente aislado fue E. coli (71% en AMB y 50% en ACS). De las 82 BLEEs incluidas en el estudio 40 pertenecían al grupo AMB y 42 al grupo ACS. La prevalencia (tasa) o riesgo de padecer ITU por enterobacterias productoras de BLEE fue del 3.51% en el grupo AMB y de 15.20% en el grupo ACS. El riesgo relativo fue del 4.34% ($p<0.0000001$, IC 95% 2.873-6.557). El riesgo absoluto fue del 11.71% (IC 95%: 7.342-16.08 y $p<0.0000001$).

Conclusiones: Este estudio confirma que el riesgo de padecer ITU por enterobacterias productoras de BLEE es 4 veces mayor en pacientes asociados a cuidados de la salud que en pacientes netamente ambulatorios o de la comunidad.

CAM - Bacteriología básica

VI 033

0671 - ROL CRUCIAL DEL GENOMA ACCESORIO EN EL CLON INTERNACIONAL 1 DE *ACINETOBACTER BAUMANNII*

ÁLVAREZ, Verónica Elizabeth[1] | VILACOBA, Elisabet[2] | QUIROGA, María Paula[1] | RAMIREZ, Maria Soledad[3] | **CENTRON, Daniela** [1]

INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (IMPAM, UBA-CONICET) [1]; MUSEO ARGENTINO DE CIENCIAS NATURALES [2]; DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCE, CALIFORNIA STATE UNIVERSITY FULLERTON [3]

Introducción y Objetivos: *Acinetobacter baumannii* es un patógeno nosocomial con alta plasticidad genómica capaz de adquirir múltiples determinantes de resistencia antibiótica conducentes a la diseminación y adaptación a la extrema y pandroga resistencia. El clon internacional 1 (IC1) posee una diseminación global y una gran capacidad para adquirir mecanismos de resistencia a los antibióticos. Realizamos estudios de comparación genómica para identificar características genéticas compartidas por las cepas pertenecientes al IC1 de diferentes regiones geográficas. Luego, estudiamos el mantenimiento a través del tiempo de la isla genómica de tipo AbaR0 de la cepa A144.

Materiales y Métodos: La cepa A144, que es la más antigua del IC1 secuenciada en nuestro país, se usó como referencia en los estudios de comparación genómica. También utilizamos 7 genomas del IC1 y 5 genomas de otros clones internacionales y clones esporádicos obtenidos de la base de datos Genbank. Realizamos estudios bioinformáticos utilizando BLAST, RAST, ACT, MAUVE, Island Viewer, PHAST e ISFinder. Para el ensayo de mantenimiento de la isla AbaR0, se cultivó una colonia de la cepa A144 a 37 °C durante 18 hs en 2 ml de caldo LB. Este cultivo se subcultivó durante 30 días. Los días 1, 7 y 30, se analizaron 30 colonias para determinar la presencia de la isla genómica mediante PCR utilizando cebadores específicos.

Resultados: Los estudios bioinformáticos realizados mostraron que el genoma A144 tiene una identidad nucleotídica promedio del 99% con A155 aislada del mismo hospital. A su vez, estos genomas tienen 97% de identidad con AYE, AB307-0294, AB5075-UW, AB0057, A1 y D36 (IC1), mientras que exhibieron 81% de identidad con ACICU (IC2), 83% con Naval-13 (IC3), 79% con AB33405 (IC113), con A118 (clon esporádico) y también con ATCC 17978 (clon esporádico). Aunque identificamos 4 inversiones, 378 inserciones y 433 deleciones cuando se comparó el genoma de A144 con los 7 genomas del IC1, observamos un alto grado de sintenia entre las cepas de IC1. Identificamos 7 regiones de plasticidad (RGP) dentro del genoma de A144. Las 7 RGP se encontraban sólo en el genoma de A144, 6 de ellas eran compartidas con A155 (RGP1, 2, 3, 4, 6 y 7) y 4 de ellas también se encontraban en AYE (RGP1, 4, 6 y 7), mientras que las RGP1 y RGP4 las detectamos en los 8 genomas del IC1. Las RGP 2, 3 y 5 poseían elementos relacionados con fagos, sugiriendo la adquisición de ADN foráneo. Observamos que las secuencias de inserción (IS) identificadas en los genomas de IC1 si bien eran compartidas por las cepas, no mantenían la ubicación genómica. La isla genómica tipo AbaR0 identificada en A144, se mantuvo al menos durante 831 generaciones en tres experimentos independientes sin presión antibiótica.

Conclusiones: En resumen, por un lado, las cepas analizadas del IC1 comparten un grado elevado de sintenia y preservan bloques del genoma accesorio, y por otro, observamos características genómicas únicas en A144, reforzando la idea de la alta plasticidad de los genomas de *A. baumannii*.

VI 034

0715 - *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* RECUPERADOS DE INFECCIONES INVASIVAS EN ARGENTINA: ¿EMERGENCIA DE UN CLON RESISTENTE?

ARIAS, Bárbara [1] | KOVACEC, Verónica[2] | VIGLIAROLO, Laura[3] | SUÁREZ, Mariana[3] | LOPARDO, Horacio[3] | BONOFIGLIO, Laura[4] | MOLLERACH, Marta[5]

CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [1]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA [3]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES / CONICET [4]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES / CONICET [5]

Introducción y Objetivos: *Streptococcus agalactiae* (EGB) es un patógeno oportunista asociado a infecciones graves en neonatos y mujeres gestantes. En los últimos años ha aumentado el número de infecciones invasivas en adultos, no asociadas a embarazos, en particular en pacientes con comorbilidades o de edad avanzada. Entre 2014 y 2015 se realizó un estudio multicéntrico de infecciones invasivas causadas por EGB con la participación de 86 centros de salud distribuidos en 32 ciudades y 16 provincias argentinas. En el marco de este trabajo epidemiológico se estudiaron 162 aislamientos invasivos, recuperados de pacientes adultos y neonatos. Se analizó el contexto clínico, el perfil de resistencia a los antibióticos y el serotipo de cada uno de ellos. El objetivo de este trabajo fue la caracterización genotípica de los aislamientos invasivos para determinar su relación clonal y evaluar si el aumento de la resistencia observado estaba asociado a la diseminación y expansión de un clon.

Materiales y Métodos: Todos los aislamientos invasivos de EGB fueron sometidos a la técnica de PFGE utilizando *SmaI.* Los perfiles con más de 85% de similitud (coef. de Jaccard) fueron agrupados en pulsotipos (A-G). Los resultados fueron analizados considerando datos epidemiológicos de los pacientes y el serotipo y el antibiotipo de los aislamientos de EGB. Se aplicaron los tests de Ji cuadrado y Fisher. Asociaciones con $p<0,05$ se consideraron significativas.

Resultados: Este estudio reveló la presencia de dos grupos clonales mayoritarios, denominados A y B, con 26 y 19 aislamientos invasivos de EGB cada uno. El pulsotipo A se asoció al serotipo Ib y el 64% (16/25) de los aislamientos expresaron resistencia a quinolonas ($p < 0,001$). Los aislamientos de este grupo fueron recuperados de 10 ciudades diferentes. El pulsotipo B presentó asociación únicamente con el serotipo Ia ($p < 0,001$) y se distribuyó entre 9 ciudades. En ninguno de los pulsotipos mayoritarios se halló asociación con el género o edad de los pacientes. Si bien los sitios de recuperación más frecuentes fueron hemocultivos e infecciones de piel y partes blandas, no se encontraron correlaciones entre el sitio de infección y los pulsotipos A y B. Adicionalmente se hallaron 5 pulsotipos minoritarios: C (6/162), D (5/162), E (5/162), F (4/162) y G (4/162). Se halló una asociación significativa entre el pulsotipo G ($n = 4$) y las infecciones neonatales de comienzo tardío ($p < 0,001$). Los 4 aislamientos pertenecen al serotipo III, globalmente asociado a infecciones neonatales.

Conclusiones: Se detectaron 2 clones mayoritarios, en uno de ellos se agrupan aislamientos de serotipo Ib y se asocia a la resistencia a quinolonas. El segundo clon prevalente incluye aislamientos de serotipo Ia. La evaluación de la clonalidad entre aislamientos invasivos resulta de gran utilidad a la hora de describir la epidemiologia actual. Este trabajo permite profundizar el análisis de las infecciones invasivas causadas por EGB.

VI 035

0782 - ANÁLISIS DE FACTORES DE VIRULENCIA EN AISLAMIENTOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINO RESISTENTE RECUPERADOS DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

HAIM, María Sol[1] | RAGO, Lucía[1] | VIELMA, Jesús[1] | GALANTERNIK, Laura[2] | **DI GREGORIO, Sabrina** [1] | MOLLERACH, Marta[1]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA [1]; HOSPITAL DE NIÑOS DR. RICARDO GUTIÉRREZ [2]

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus aureus* es el principal patógeno aislado durante los primeros años de vida de pacientes con fibrosis quística (FQ). Se ha postulado que este patógeno podría desarrollar diversos mecanismos de adaptación para persistir en las vías aéreas de pacientes con FQ a pesar del tratamiento antibiótico. Entre ellos, podemos mencionar la adquisición de resistencia a antibióticos, formación de biofilms, modificaciones en genes de virulencia y la aparición de variantes de colonia pequeña. En el caso de la FQ, la modificación de los factores de virulencia se relaciona con la persistencia en el huésped y la evasión de la respuesta inmune. El objetivo del trabajo fue caracterizar algunos de los factores de virulencia que podrían estar relacionados con la adaptación de *S. aureus* en pacientes con FQ.

Materiales y Métodos: Se analizaron 30 aislamientos de *S. aureus* meticilino resistente (SAMR) pertenecientes a distintos genotipos (CC5-IV, CC30-IV y otros), recuperados de pacientes con FQ atendidos en el hospital de niños "Dr. Ricardo Gutierrez" durante los años 2012-2015. Se buscó la presencia de los siguientes genes por PCR: toxinas *luk*S/F-PV y *sea* y adhesinas *clfA, clfB, cna, bbp, eno, ebp* y *fib*. Además se evaluó la funcionalidad del locus agr mediante la producción de delta-hemolisina en placas de agar sangre. Se compararon los resultados obtenidos con datos reportados previamente para aislamientos de SAMR recuperados de otras infecciones.

Resultados: En concordancia con lo reportado previamente en aislamientos no FQ, todos los aislamientos FQ presentaron los genes clfA, clfB y eno; los genes cna y bbp se encontraron asociados al clon CC30-IV (7/30); 27/30 y 23/30 fueron positivos para los genes fib y ebps, respectivamente. Los genes *luk*S/F-PV fueron positivos para 15/30. A diferencia de lo descripto para aislamientos CC5-IV de pacientes no FQ, el gen sea no se encontró en la totalidad de los aislamientos. El agr resultó funcional en 21/30 y 7/9 aislamientos con un agr no funcional pertenecían al clon CC5-IV.

Conclusiones: Los aislamientos recuperados de pacientes con FQ presentan, además de mayor frecuencia de multirresistencia, diferente perfil de virulencia, al compararlos con aislamientos recuperados de pacientes no FQ. Ejemplos de esto son la ausencia del gen *sea* y la menor funcionalidad del locus agr en aislamientos del CC5-IV. La menor funcionalidad del locus agr podría favorecer la expresión de adhesinas contribuyendo a la persistencia de *S. aureus* en las vías aéreas de estos pacientes. Además, el gen sea suele formar parte de la estructura de un fago, por lo que se remarca que la movilización de fagos desempeñaría un papel importante en la microevolución de *S. aureus* en las vías aéreas de pacientes con FQ. Se deben explorar otros posibles mecanismos relacionados con la expresión de dichos genes para explicar de un modo más acabado las implicancias de los factores de virulencia en la patogénesis de *S. aureus* en FQ.

VI 036

0835 - GENOTIPIFICACIÓN DE *BRUCELLA MELITENSIS* MEDIANTE MLVA-16 A PARTIR DE TEJIDOS CAPRINOS Y OVINOS OBTENIDOS DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS

ARREGUI, Matias Ezequiel | SAMARTINO, Luis Ernesto

INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA, CICVYA – INTA

Introducción y Objetivos: La brucelosis es una enfermedad zoonótica endémica de Argentina. *Brucella melitensis* encuentra como hospedadores de preferencia a caprinos y ovinos. La baja sensibilidad del diagnóstico bacteriológico dificulta la utilización de herramientas complementarias. En el caso de contar con el ADN de *B. melitensis*, una posibilidad es ejecutar una genotipificación mediante MLVA-16 (Multi Locus VNTR Analysis-16). El objetivo de este trabajo fue la genotipificación mediante MLVA-16 aplicando la técnica directamente sobre ADN tisular de caprinos y ovinos infectados y comparar los resultados con los genotipos obtenidos de aislamientos.

Materiales y Métodos: Se realizó el diagnóstico serológico de brucelosis sobre un grupo de animales de diferentes establecimientos provenientes de los departamentos Ayacucho, Belgrano y General San Martin de la provincia de San Luis. Las técnicas serológicas utilizadas fueron la prueba de aglutinación con antígeno buferado (BPA), ensayo de polarización fluorescente (FPA) y fijación de complemento (FC). Se practicó la necropsia de 104 animales (98 caprinos adultos y 6 ovinos). De las necropsias se recuperaron muestras para ser procesadas mediante bacteriología clásica para obtener aislamientos de *B. melitensis*. En simultáneo se realizó la extracción de ADN total de tejidos. Mediante PCR se buscó la presencia de la secuencia de inserción *IS711* que presenta polimorfismo específico de especie. Se tuvieron en cuenta para análisis

posteriores sólo aquellas muestras que presentaron una banda positiva para *B. melitensis*. Posteriormente se ejecutó la secuencia de PCRs del panel MLVA-16 (Le Flèche et al.). Se analizaron y compararon los patrones de bandas de MLVA obtenidos. Se utilizó como control positivo extracción a ADN de *B. melitensis* 16M, cuyos amplicones ya son conocidos.

Resultados: Se obtuvieron 32 aislamientos de *B. melitensis* biovar 1 de tejidos caprinos. No se recuperaron aislamientos compatibles con *Brucella spp*. de los tejidos ovinos. Los aislamientos provinieron del procesamiento de linfonódulos principalmente y de bazo. Se identificó ADN de B. melitensis en 62 animales (caprinos y ovinos). Se evidenciaron 49 genotipos diferentes de *B. melitensis* en todas las muestras procesadas (ADN de aislamientos y total de tejidos de animales infectados).

Conclusiones: MLVA-16 es una herramienta epidemiológica importante para el conocimiento de genotipos circulantes de *Brucella spp*., formular estrategias para el control de la enfermedad y analizar la aparición de brotes mediante trazabilidad o nuevas cepas. Los tejidos ovinos analizados, a pesar de no poder brindar aislamientos, permitieron obtener información importante, ya que comparten genotipo de *Brucella melitensis* con los caprinos del mismo establecimiento. Mediante estos procedimientos se pone en evidencia la capacidad de analizar directamente tejidos o productos derivados de animales de manera anticipada, mientras se procesan las muestras para obtener aislamientos.

VI 037

0464 - LA SECRECIÓN DE METALO-BETA-LACTAMASA NUEVA DELHI EN VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA ES CAPAZ DE PROTEGER POBLACIONES BACTERIANAS CIRCUNDANTES DURANTE CO-INFECCIONES EN *GALLERIA MELLONELLA*

MARTÍNEZ, Melina [1] | SEMORILE, Liliana[2] | VILA, Alejandro[3] | GONZALEZ, Lisando[3] | MAFFIA, Paulo Cesar[1]

LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA MOLECULAR, DPTO. DE CYT, UNQ / CONICET [1]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA MOLECULAR, DPTO. DE CYT, UNQ [2]; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO IBR (CONICET & UNR) [3]

Introducción y Objetivos: La aparición y la diseminación mundial de las bacterias Gram-negativas productoras de carbapenemasas ha generado una gran preocupación en lo referente a la salud pública. Las metalo-beta-lactamasas (MBLs) representan la familia más grande de carbapenemasas, y sus genes se han diseminado en todo el mundo. Entre ellas, la metalo-beta-lactamasa Nueva Delhi (NDM-1) ha mostrado la diseminación geográfica más rápida y más amplia, encontrándose no solo en aislamientos clínicos, sino también en bacterias del medio ambiente. Mientras que la mayoría de las MBLs son enzimas periplásmicas solubles, la NDM-1 está anclada a la membrana externa bacteriana. Esta localización celular atípica favorece la secreción selectiva de NDM-1 en vesículas de membrana externa (OMVs, por sus siglas en inglés). El objetivo de este trabajo fue evaluar en un modelo de infección *in vivo* de larvas de *Galleria mellonella*(GM) si la presencia de OMVs con NDM-1 es capaz de brindar resistencia a cepas sensibles a carbapenemes en infecciones con *Escherichia coli* y en co-infecciones conjuntas de *E. coli* que secreta OMVs con NDM-1 y *Pseudomonas aeruginosa* sensible.

Materiales y Métodos: Se construyeron cepas de *E. coli* de igual resistencia a carbapenemes pero que secretan cantidades variables de NDM-1 en OMVs. A tal fin se transformó *E. coli* ATCC25923 con un plásmido que expresa NDM-1 salvaje, secretada eficientemente en OMVs, o una variante periplasmática soluble (NDM-1 C26A) de secreción limitada. En una tercera variante se construyó una cepa hyperproductora de OMVs (*E. coli* ATCC25923 delta*degP*) que expresa NDM-1 salvaje. Como control se utilizó la cepa de *E. coli* transformada con el plásmido sin el gen de NDM-1. Para probar la protección durante una co-infección se utilizó la cepa *P. aeruginosa* PAO1 sensible a carbapenemes. Se realizaron ensayos de sobrevida y recuento de UFC en un modelo estandarizado de infección en larvas de GM.

Resultados: Como resultados pudimos observar que la NDM-1 unida a vesículas mostró estabilidad tras la inyección en larvas infectadas con *E. coli* sensible a carbapenemes y tratadas con meropenem. Esto otorgó protección a la cepa sensible al antibiótico, permitiendo la infección y muerte de las larvas. Las curvas de muerte de GM mostraron que la encapsulación en vesículas protege a la NDM-1, prolongando y favoreciendo la resistencia al carbapenem dentro de la hemolinfa. Este fenómeno también se observó en experimentos de co-infección con meropenem, en los que que la supervivencia de *P. aeruginosa* sensible aumentó 5 unidades logarítmicas (log) durante la co-infección con *E. coli* que expresa NDM-1 salvaje, y 4 log con la cepa hyperproductora de vesículas. Por el contrario, con la variante de *E. coli* que expresa NDM-1 C26A, *P. aeruginosa* mostró un aumento de sólo 3 log (2 log menos que con NDM-1 salvaje).

Conclusiones: Concluimos que la secreción de NDM-1 en vesículas es capaz de proteger a poblaciones bacterianas circundantes sensibles a carbapenemes durante una co-infección.

VI 038

0891 - *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE*: ESTUDIO SOBRE LA GERMINACIÓN DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS TOXIGÉNICOS

SOLDAVINI PELICHOTTI, Paola Cecilia | TREJO, Fernando Miguel | PÉREZ, Pablo Fernando

CIDCA (CONICET, CICPBA Y UNLP)/CÁTEDRA DE MICROBIOLOGIA GENERAL (FCE, UNLP)

Introducción y Objetivos: *C. difficile* es un patógeno anaerobio estricto esporulado que se establece y desarrolla en el colon del hospedador, causante de diarreas y colitis pseudomembranosa. Su diseminación y contagio ocurre a través de sus esporos, que al germinar por acción de componentes luminales como taurocolato de sodio (TA) y glicina (G) desencadenan la patogénesis. La germinación se caracteriza por la hidrólisis del cortex que conlleva cambios en las propiedades ópticas de los esporos y a la liberación de ácido dipicolínico (DPA). El objetivo de este trabajo fue estudiar la respuesta de esporos aislamientos clínicos de *C. difficile f*rente a distintas condiciones de germinación.

Materiales y Métodos: En las cepas ALCD3, GCD2 y 117 se evaluó la germinación de esporos pre-activados térmicamente (20min – 65ºC) a diferentes temperaturas y en presencia o no de TA y G, mediante dos métodos: 1) Determinación de la cinética de descenso de DO a 600nm y 2) Determinación de la cinética de liberación de DPA (fluorescencia en presencia de TbCl3; IF). A partir de los gráficos DOt/DO0 vs t y IFt/IF0 vs t, se calcularon las velocidades VDO y VDPA expresadas como [ð(DOtð/DO0)/ðmin] y [ðIF/ðmin] respectivamente.

Resultados: Las velocidades de germinación a diferentes concentraciones de TA a 25°C fueron: a [TA]= 50 mM, VDO ALCD3 = (7,3 ± 0,1) x 10-3, VDO 117 = (3,7 ± 0,3) x 10-3 y VDOGCD2 = (1,6±0,3) x 10-3. A [TA]= 100 mM: VDOALCD3 (14 ± 1) x 10-3, significativamente mayor comparado con 117 y GCD2, cuyos valores fueron de VDO 117 = (1,7 ± 0,5) x 10-3 y VDOGCD2 (1,66 ± 0,04) x 10-3. Cuando se evaluó TA 150 mM, los valores alcanzados fueron, VDO 117 = (2,26 ± 0,04) x 10-3 y VDOGCD2 = (3,1±0,2) x 10-3. Las cepas ALCD3 y GCD2, incrementaron de manera significativa su velocidad de germinación con el aumento de TA. Mediante cinética de liberación de DPA, se evaluó, la germinación de esporos pre-activados, frente a G 100mM y distintas concentraciones de TA, a 37°C. Los valores obtenidos fueron: GCD2 (VDPA100mMTA: 1.2 x 10-2, VDPA12.5: 1.16 x 10-2, VDPA1.8mMTA: 0.681 x 10-2 , VDPA0.1mMTA: N/D) ALCD3 (VDPA100mMTA: 6 x 10-2 , VDPA12.5mMTA: 16.2 x 10-2 , VDPA1.8mMTA: 6.8 x 10-2 , VDPA0.1mMTA: 1.50 x 10-2). Mientras que GCD2 mostró un comportamiento dosis respuesta, ALCD3 presentó una concentración óptima de 10mM de TA para la germinación. Las velocidades de liberación de DPA para ALCD3 a diferentes temperaturas fueron de: VDPA25°C: 1.6 x 10-2 , VDPA30°C: 3.6 x 10-2 y VDPA37°C: 6 x 10-2. Estos resultados confirman una mayor eficiencia de la germinación cuando el proceso ocurre a 37°C.

Conclusiones: Se puede concluir que las cepas estudiadas presentan diferentes capacidades de germinar frente a inductores presentes en el lumen intestinal como el taurocolato y la glicina, siendo también la temperatura un factor determinante en la germinación. La mejor comprensión del proceso de germinación de *C. difficile* permitirá desarrollar estrategias enfocadas al control de las infecciones asociadas con este patógeno.

VI 039

0964 - CARACTERIZACIÓN DE LA ESPECIFICIDAD DEL SUSTRATO DE LA ENZIMA HIDROLASA DE SALES BILIARES DE LA CEPA PROBIÓTICA *LACTOBACILLUS REUTERI* CRL 1098 MEDIANTE ANÁLISIS DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR

BUSTOS, Ana Yanina [1] | TARANTO, María Pía[2] | LEDESMA, Ana Estela[3]

FACULTAD DE HUMANIDADES CIENCIAS SOCIALES Y DE LA SALUD, UNSE [1]; CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA) [2]; CENTRO DE INVESTIGACIONES EN BIOFÍSICA APLICADA Y ALIMENTOS (CIBAAL) [3]

Introducción y Objetivos: Los AB conjugados (AB), principales contituyentes de la bilis, son hidrolizadas por la enzima hidrolasa de sales biliares (HSB), presente exclusivamente en algunas especies de la microbiota intestinal. Como productos de esta reacción se liberan el ácido deconjugado correspondiente (ácido cólico o deoxicólico) y a los aminoácidos taurina o glicina.

Materiales y Métodos: Para ello, se optimizaron las moléculas de AB conjugados (taurocólico, glicocólico, taurodeoxicólico, glicodeoxicólico, tauroquenocólico, glicoquenocólico) y la enzimautilizando el programa Gaussian. Los análisis se realizaron utilizando la herramienta AutoDock 4.2.

Resultados: Nuestros resultados mostraron que la enzima HSB de la cepa CRL 1098 presenta mayor afinidad hacia los ácidos glico-conjugados en comparación con las especies tauro-conjugadas. En el reconocimiento intervienen tanto la molécula esteroidea como el aminoácido. La enzima presenta mayor interacción con el ácido glicodeoxicolico (energía de unión de -6,88 kcal/mol, constante de inhibición 24,36 µM), seguido del ácido glicoquenodeoxicolico (-6,29; 23,35), tauroquenodeoxicolico (-6,32; 23,35 µM), glicocólico (-5,88; 49.92 µM), taurodeoxicólico (-5,63; 74,08 µM) y taurocólico (-2,96; 6,71 µM). En todos los casos los residuos que intervienen en las interacciones ponen de manifiesto el predomino de fuerzas de van der Waals en el sitio de

unión. Asimismo, se observó la presencia de interacciones puente hidrogeno, siendo este tipo de interacción más intensa para el glicoquenodeoxicólico.

Conclusiones: Los resultados obtenidos permiten profundizar en el estudio del mecanismo de acción de la enzima HSB de la cepa probiótica CRL 1098 y proporciona las bases moleculares para comprender su especificidad de sustrato.

CAM - Bacteriología clínica

VI 040

0078 - AISLAMIENTOS DE *CAMPYLOBACTER* SPP DE LOCALIZACIONES EXTRA INTESTINALES. ARGENTINA. 2006-2019

FARACE, Maria Isabel | REGGIANE, Silvia | RUGGERI, Diego | CASTELLI, Edgardo | ROCCA, Florencia

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: El género *Campylobacter* se asocia tradicionalmente a gastroenteritis agudas, siendo uno de los principales agentes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), es por ello que se investiga en materia fecal. Sin embargo, en los últimos años se obtuvieron aislamientos a partir de otras muestras clínicas. Los aislamientos y muestras provienen de diferentes centros de salud a nivel nacional, de la Red Nacional de Gastroenteritis y patógenos de transmisión alimentaria y de la red de vigilancia de resistencia (Whonet). Como Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) se realiza la vigilancia epidemiológica, de la resistencia a antimicrobianos y el estudio de los perfiles genéticos (Pulsenet) El objetivo del presente trabajo es describir las características clínico-epidemiológicas de estos hallazgos y promover su investigación a nivel nacional.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo descriptivo a partir de aislamientos recibidos desde 2006 hasta 2017. Los mismos fueron tipificados por métodos bioquímicos y moleculares, en el año 2013 se incorporó espectrometría de masas (Maldi-tof) Las pruebas bioquímicas incluyeron exámenes en fresco, tinción de Gram, oxidasa, hidrolisis del hipurato, indoxilacetato y crecimiento a diferentes temperaturas

Resultados: En el periodo estudiado se obtuvieron 37 aislamientos, 35 fueron obtenidos de hemocultivo, uno de lavado broncoalveolar y el otro de punción de hematoma relacionado con aislamiento de uno de los hemocultivos, correspondiendo al mismo paciente. Del total, 17 (46 %) correspondieron a *Campylobacter* fetus, (37,8 %) a *Campylobacter* jejuni y 6 (16,2 %) a *Campylobacter* coli.

Conclusiones: Desde el año 2006 se investiga *Campylobacter* spp en el LNR, Se ha incrementado el número de laboratorios que incorporaron la investigación de este patógeno. A partir del 2009 se obtuvieron aislamientos en muestras no fecales, con tendencia en aumento, lo que nos da indicios de la necesidad de investigar este microorganismo en muestra de origen no fecal, principalmente en pacientes con alguna patología de base, principalmente enfermedades oncológicas o procesos que generen algún estado de inmunodepresión que permita la invasión de este microorganismo. C. fetus germen oportunista, posee un mecanismo de evasión a la respuesta inmune debido a su capsula, siendo uno de sus factores de virulencia S layer que explica su ubicación extraintestinal. La presencia de otras especies en otras localizaciones, hace pensar en la perdida de la integridad de la mucosa intestinal y a la posibilidad de la existencia de una patología subyacente o estado inmunitario deficiente que es necesario estudiar y aplicar medidas terapéuticas. Es necesario insistir sobre la importancia de su investigación.

VI 041

0423 - ENFERMEDAD NEUMOCÓCICA INVASIVA (ENI) EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS: IMPACTO DE LA VACUNA CONJUGADA 13-VALENTE (PCV13) EN ARGENTINA

NAPOLI, Daniela | GAGETTI, Paula | ZINTGRAFF, Jonathan | FOSSATI, Sofia | MOSCOLONI, M.A | RED DE VIGILANCIA LABORATORIAL DE, Spn Argentina | REGUEIRA, Mabel | CORSO, Alejandra

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: . Streptococcus pneumoniae (Spn) es un importante agente causal de enfermedad invasiva, con una alta tasa de morbi-mortalidad en todo el mundo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar cambios en la distribución de serotipos y resistencia antimicrobiana de Spn causantes de ENI en niños < 2 años antes y después de la introducción de la PCV13 al Calendario Nacional de Vacunación (CNV) en Enero de 2012 para niños < 1 año (esquema 2+1).

Materiales y Métodos: . Entre Enero de 2010 y Diciembre de 2018, se recibieron en el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) 2116 aislamientos de Spn de sitio estéril de pacientes pediátricos < 5 años. Los Spn provenientes de 169 hospitales (23 provincias y CABA), se serotipificaron por Quellung y las CIMs se determinaron por dilución en agar (CLSI). Se consideró % de No-sensibilidad (NS) %I + %R. Se definieron cuatro períodos: Período 1 (pre-PCV13 2010-2011), Período 2 (post-PCV13 2013-2014), Período 3 (post-PCV13 2015-2016), Período 4 (post-PCV13 2017-2018). Se consideraron diferencias significativas si p<0,05 (Test de Fisher).

Resultados: De 2116 aislamientos provenientes de niños < 5 años, 1188 (56,2 %) correspondieron a < 2 años. La distribución de presentaciones clínicas fue: neumonía (41,3%), meningitis (28%), sepsis (17%), otras (13,7%). El número de aislamientos causantes de ENI en < 2 años disminuyó de 224 en 2010 a 78 en 2018 (65,2%). Los serotipos-PCV13 disminuyeron de 86,4% (Período 1) a 26,9% (Período 4), principalmente a expensas de los serotipos 14, 23F y 5 (p<0,05). En el período 4 no se recibieron aislamientos de los serotipos 6A y 6B. Los serotipos No-PCV13 aumentaron de 13,6% a 73% (Período 1 vs. 4, p<0,05), debido principalmente a los serotipos 24 (2,1%/13,2%) y 12F (3%/13,8%). Comparando los periodos 1 y 4 la NS fue: penicilina (PEN) 38,7% (31,9% CIM 0,12-1µ;g/mL; 6,6% CIM 2µ;g/mL; 0,2% CIM 4µ;g/mL)/ 25,9% (31,9% CIM 0,12-1µ;g/mL; 6,6% CIM 2µ;g/mL; 0,2% CIM 4µ;g/mL); cefotaxima 5.7%/6,8% (meningitis), 0,7%/2,7% (no-meningitis); amoxicilina 0,2%/2%; meropenem 8,2%/6,8%; eritromicina 33%/19,7%; tetraciclina/doxiciclina 20,7%/31,3%; trimetoprima-sulfametoxazol (SXT) 38,5%/50,3%. Todos los Spn fueron sensibles a cloranfenicol, levofloxacina, rifampicina, ceftarolina y vancomicina. Se observó aumento de NS a tetraciclina, doxiciclina y SXT y disminución de NSPEN y eritromicina. Los principales serotipos asociados a NS-PEN comparando los periodos 1 y 4 fueron: 14 (42,4%/5,3%), 24F,A,B (4,1%/44,7%), 19A (11,8%/21,1%), 6A (13,5%/0) y 6B (11,2%/0). Entre los serotipos No-PCV13, el 24F,A,B se asoció a MDR, con NS a PEN, eritromicina, tetraciclina, doxiciclina y SXT.

Conclusiones: Se observó una disminución de los serotipos PCV13, paralela al aumento de los No-PCV13, principalmente asociado a los serotipos 24 y 12F. El aumento de serotipos No-PCV13, especialmente la emergencia del serotipo 24 asociado a MDR, es de particular importancia en la era Post-PCV13.

VI 042

0445 - *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE*. INFECCIÓN EXTRAINTESTINAL EN UN PACIENTE PEDIÁTRICO. REPORTE DE UN CASO

GARCIA, Maria Eva | **MALDONADO, Maria Laura** | PÉREZ, Gabriela | HERNÁNDEZ, Claudia | LITTERIO, Mirta Rosa

HOSPITAL DE PEDIATRIA S.A.M.I.C. "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN"

Introducción: *Clostridioides difficile* (CD) es un bacilo gram positivo anaerobio esporulado que pertenece al *phylum Firmicutes*. En la población pediátrica la portación de CD, sobretodo en menores de 1 año, está ampliamente documentada. Las cepas toxigénicas producen infección gastrointestinal (ICD) con un amplio espectro de cuadros clínicos. En nuestro centro, un hospital pediátrico de alta complejidad, se diagnostica en el 10% de los pacientes con diagnóstico presuntivo de ICD. El microorganismo en sí mismo no es invasivo y las infecciones extra-intestinales (EICD) son extremadamente raras. En contraste con la típica ICD las manifestaciones EICD son menores al 1% de las infecciones por CD, según datos de la literatura, y la bacteriemia es la más frecuente de ellas. Las bacteriemias por anaerobios son en su gran mayoría secundarias a procesos infecciosos de localización abdominal y, en ese contexto, los hemocultivos polimicrobianos son más frecuentes. *Bacteroides* grupo *fragilis* y *Clostridium* spp., *perfringens* especialmente, son los agentes etiológicos que más recuperamos. Reportamos el primer aislamiento, en nuestro centro, de CD a partir de una bacteriemia polimicrobiana en un paciente pediátrico con diagnóstico de hernia diafragmática.

Caso Clínico: Paciente femenino de 8 meses de edad con antecedentes de hernia diafragmática congénita corregida al nacimiento y ductus arterioso persistente corregido. Ingresó a nuestro centro por intolerancia oral y mal progreso de peso para ser estudiada. Fue intervenida quirúrgicamente en varias oportunidades por malrotación intestinal, perforación intestinal y resección con anastomosis e ileostomía. Presentó shock séptico a foco enteral, con bacteriemia polimicrobiana. Los hemocultivos fueron positivos con rescate de *Escherichia coli* a partir de la botella aerobia y *C. difficile* (cepa no toxigénica), *Citrobacter brakii* y *Enterococcus faecalis* a partir de la anaerobia. Recibió tratamiento antibiótico con meropenen, vancomicina y gentaminica. La paciente evolucionó desfavorablemente.

Conclusiones: Destacamos: 1) el primer aislamiento, en nuestro centro, de *Clostridioides difficile* a partir de una infección extra-intestinal, 2) la importancia del uso de la botella anaerobia en el *set* de hemocultivos de una bacteriemia a foco abdominal para el diagnóstico de anaerobios en sangre y del empleo de técnicas adecuadas de subcultivo de las mismas, 3) el valor agregado en el uso de botellas anaerobias en la recuperación de microorganismos anaerobios facultativos.

VI 043

0490 - BACTERIEMIA POR *BRUCELLA ABORTUS*

VISIC COTO, Luis Osvaldo | MONGE, Renata

HOSPITAL BRITÁNICO

Introducción: La brucelosis es una enfermedad de curso crónico que afecta tanto al hombre como a los animales, causada por la bacteria *Brucella spp*. Es un bacilo o cocobacilo Gram negativo, aerobio estricto, intracelular y de crecimiento lento en medios de cultivo. Las manifestaciones clínicas varían desde una infección asintomática a una enfermedad debilitante grave. La patología suele instalarse de forma insidiosa después de un periodo de incubación de alrededor de 2 a 3 semanas y las complicaciones más frecuentes pueden ser artritis, espondilitis y endocarditis. Las especies de *Brucella sp.* son altamente infectivas. Por este motivo, en caso de sospecha, se debe trabajar bajo estrictas normas de bioseguridad para asegurar la salud del personal de laboratorio.

Caso Clínico: Pacientes de 38 Años veterinario rural, se presenta a la consulta por síndrome febril, escalofríos, sudor y dolor articular-muscular. Refiere realizar tareas rurales pertinentes a su profesión sin utilizar protección personal. Ante la sintomatología clínica consultó en otro centro de salud donde reporta haberse realizado serología para Brucelosis que resultó positiva. Se decide realizar técnica Rosa de Bengala y tomar muestras de hemocultivo por tres que se incuban en sistema automatizado BD BACTEC FX. Rosa de Bengala arroja un resultado positivo y a las 72 hs positivizan 3/3 hemocultivos, que en la coloración de Gram se observan bacilos Gram negativos cortos y cocobacilos negativos. En cultivo en Agar Sangre ovino desarrollan colonias pequeñas, con prueba de catalasa positiva, oxidasa positiva y urea positiva. Ante la sospecha clínica de potencial Brucelosis se deriva el aislado al Instituto Nacional de Microbiología DR C. G. Malbran para su identificación donde se confirma el aislado como *Brucella Abortus Biovar 1*. El paciente recibe de tratamiento Doxiciclina y Rifampicina durante 3 meses y sufre una recaída al año. Se hace atender en otro centro hospitalario más cercano a su domicilio donde repiten el esquema del tratamiento inicial y evoluciona favorablemente, con títulos serológicos en declive.

Conclusiones: Debido a la inespecificidad de los síntomas generados por las bacterias del género *Brucella spp.*, resulta fundamental la sospecha clínica y el conocimiento sobre el paciente que tiene contacto con animales potencialmente infectados. En este contexto la sospecha clínica no solo permite realizar un diagnósticos rápido sino también extremar las conductas de bioseguridad para el procesamiento y manipulación de las muestras remitidas, que evitará aumentar el riesgo de contagio dentro del laboratorio.

VI 044

0592 - RESISTANCE RATES TO POLYMYXIN B AMONG CARBAPENEM RESISTANT *ACINETOBACTER BAUMANNII* COMPLEX ISOLATES AT A TERTIARY CARE HOSPITAL IN SOUTH OF BRAZIL

ORLANDI BARTH, Patricia | CELESTINO DE SOUZA, Ândrea | COLLIONI CONSTANTE, Caroline | DE SOUZA MARTINS, Daniela | DA CUNHA WILLERS, Denise Maria | PIRES MACHADO, Denise | RUSCHEL PILGER DE OLIVEIRA, Kátia | LUTZ, Larissa | BRASIL DA SILVA, Matheus | WURDIG ROESCH, Eliane | CASTRO PEREIRA, Dariane | RODRIGUES AQUINO, Valério

UNIDADE DE MICROBIOLOGIA, SERVIÇO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Introduction and objectives: *Acinetobacter baumannii* has emerged as an opportunistic pathogen causing health care-associated infections in critically ill patients. Major risk factors include invasive procedures, prior antibiotic use and length of hospital stay, specially in intensive care units. In this context, Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* Complex (CRAB) has been endemic and polymyxins are the main therapeutic options. Although rare, CRAB has been reported. The main mechanism of resistance is mutations in pmrCAB leading to the overexpression of the operon and subsequently the lipid A modification, which is the binding target of polymyxins in bacterial outer membrane. The aim of this study is report the polymyxin B (PMB) resistance among CRAB isolates from clinical samples of patients attended in a tertiary hospital located in south of Brazil.

Materials and methods: A retrospective study was conducted to evaluate clinical and microbiological data from patients with positive culture for CRAB from January, 2018 to March, 2019. The collection of biological material was conducted according to physicians' recommendations. Bacteria identification was performed by Vitek©MS system (bioMérieux, France), and antimicrobial resistance patterns were performed by disk-diffusion method according to CLSI standardization. PMB susceptibility was performed by broth microdilution method, according to CLSI.

Results: Total of 58 CRAB isolates were recovered in the study period and were most commonly obtained from tracheal aspirate/sputum (41,4%), blood (17,3%) or urine (19,0%) samples. According to the antibiotic resistance profiles piperacillin-tazobactam, ceftazidime and ciprofloxacin presented the highest rate of resistance (100%, 97% and 95%) and amongst aminoglycosides antibiotics we observed the highest

susceptibility pattern: amikacin (19%) and gentamicin (28%). Polymyxin B was effective against 98% of CRAB isolates. PMB MIC ranged from 0.25-4.0 µ;g/mL and MIC50/MIC90 were 0.5 µ;g/mL/2.0 µ;g/mL, respectively. Only 1 (2%) CRAB isolate, from respiratory tract sample, presented resistance to PMB (MIC = 4.0 µ;g/mL).

Conclusions: The emergence of PMB-resistant *A. baumannii* strains in the clinical setting, although still occasional, is increasing due to the growing use of this antibiotic. Analysis of our collection of CRAB, we have identified a strain of CRAB resistant to PMB. Extensively-resistant *Acinetobacter baumannii* is currently one of the most concerned bacterial pathogens due to its resistance to virtually all antibiotics.

VI 045
0799 - SALMONELOSIS RECURRENTE EN PACIENTE HIV

CANO, Fernanda Cecilia de Los Angeles[1] | **PEÑA, Gabriela Lorena** [1] | **ROMERO, Sara Araceli** [1] | REYES, Nahir Daniela Anahi[2]

HOSPITAL ENRIQUE VERA BARROS [1]; HOSPITAL ENRIQUE VERA BARROS [2]

Introducción: La salmonelosis es una enfermedad transmitida generalmente a través de los alimentos, principal causa de brotes que afectan a la población, especialmente a inmunodeprimidos. El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos y no esporulados.

Caso Clínico: Paciente masculino de 23 años, ingresa a la guardia del Hospital Enrique Vera Barros a fines del año 2018, con dolor lumbar, disuria, polaquiuria y síndrome febril, diarreas intermitentes. Indica ser consumidor de drogas ilícitas. Refiere mantener relaciones sexuales casuales, parejas ocasionales. Antecedentes: Consulta en 5 ocasiones durante el año 2018 por urgencia miccional a Centros Primarios de Salud siendo tratado con ciprofloxacina. En diciembre del mismo año, por reiterados cuadros miccionales sin evolución favorable se solicita serología para VHB, VHC, VDRL, CMV, VEB, Chagas y HIV. Se realiza Test rápido para HIV dando positivo. Se confirma retrovirus por Western Blot con carga viral de 465,000 copias, y un recuento de CD4 de 4 células. La serología restante dió negativa. Se inicia tratamiento Antirretroviral. Se realizaron los siguientes estudios: TAC de cerebro, de abdomen con hepato-esplenomegalia, sin alteraciones; coprocultivo, coproparasitológico y hemocultivos: todos negativos. Se solicita urocultivo en el cual se obtuvo desarrollo de 10^5 UFC/mL de bacilo Gram-negativo identificado como *Salmonella* spp con pruebas de tipificación manual, derivándose al laboratorio de referencia Malbrán para su tipificación final como *Salmonella* typhimurium. Aislándose el mismo patógeno en las muestras de urocultivos posteriores. La sensibilidad se realizó mediante placas con discos de difusión, siendo sensible a ampicilina, cefazolina, ampicilina/sulbactam, trimetoprima/sulfametoxazol, ciprofloxacina, cefixima y resistente a nitrofurantoína, teniendo la misma sensibilidad en todas las muestras. Se interna al paciente y continúa el tratamiento con Ciprofloxacina, ante la persistencia de fiebre, se rota a Ceftriaxona, con óptima respuesta. Luego de la internación continua tratamiento vía oral con ciprofloxacina a altas dosis.

Conclusiones: En pacientes inmunodeprimidos con afecciones urológicas el origen está relacionado con diseminación hematógena o de patologías urológicas de carácter obstructivo, al no obtener alteraciones en los estudios por imagen y considerando los valores de proteinuria y creatinuria normales se descarta este origen. La posibilidad de que el paciente sea portador también se desestima debido a que no se aisló en los coprocultivos. Los hemocultivos fueron negativos, sin bacteriemia. Debido a la conducta sexual del paciente y ante la falta de asistencia de profesionales que esclarezcan dicha situación, una explicación sería relaciones sexuales (anal), sin protección provocando el contagio del mismo. Hay que destacar la inmunosupresión del paciente como una de las principales causas de infecciones recurrentes por la bacteria.

VI 046
0834 - BACTERIEMIA POR *SHIGELLA SONNEI* EN EL CONTEXTO DE UN AUMENTO DE LA FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS EN UN CENTRO DE CABA ESTUDIADO POR EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

BRENGI, Silvina Patricia [1] | STRIEBECK, Pablo[2] | MALDONADO, Ivana[2] | BERGER, Alejandra[2] | FOX, Bárbara[2] | GONZÁLEZ FRAGA, Sol[1] | PANAGÓPULO, Marcela[1] | VIÑAS, María Rosa[1] | FERNÁNDEZ CANIGIA, Liliana[2]

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; HOSPITAL ALEMÁN [2]

Introducción: *Shigella spp*. es el principal agente etiológico de diarrea disentérica, siendo *S. flexneri* el serogrupo más frecuente seguido por *Shigella sonnei(S. sonnei*). La bacteriemia por este patógeno es infrecuente, desde el INEI-ANLIS se han documentado solo 2 casos asociados a desnutrición en un recién nacido e inmunocompromiso en un adulto. Se han estudiado en el país numerosos brotes ETA con transmisión persona a persona por *Shigella spp*.

Caso Clínico: Entre el 22/2 y el 3/3 de 2019 se observó un aumento de S. sonnei registrandosé 10 casos (11 a 80 años) residentes de CABA, excepto dos (Bernal y Pacheco). Uno de los pacientes (varón, 15 años) consulta el 26/2 por vómitos, diarrea no sanguinolenta, dolor abdominal y registros subfebriles de 24 hs de evolución. Se constata fiebre de 39°C con deshidratación moderada, leucocitosis de 14.560/ml con neutrofilia, proteína C reactiva de 37.5 mg/dl, hepatograma y orina completa normales. Se interna con diagnóstico de gastroenteritis aguda (GEA) de probable etiología infecciosa. Como antecedente había consumido 48h antes hamburguesas con cocción parcial, igual que ambos padres y un hermano presentando todos GEA. El coprocultivo y 1/2 hemocultivos evidenciaron desarrollo de S. sonnei. Se inicia tratamiento con ceftriaxona con buena evolución. Los aislamientos se identificaron por MALDI-TOF MS, pruebas bioquímicas y serotipificación. Se derivaron al INEI-ANLIS para su estudio mediante Electroforesis en Campo Pulsado (PFGE) con XbaI (PulseNet). Se incorporaron los perfiles genéticos a la Base de Datos Nacional (BDN) de S. sonnei que incluye 1347 aislamientos recuperados desde el 2000. Entre los 11 aislamientos, se identificaron 3 agrupamientos genéticos. El mayoritario (cluster I) agrupó 5 aislamientos con alta similitud (97-100%). El cluster II, se diferenció del anterior en 3 bandas (90% de similitud) y agrupó 2 casos junto a los aislamientos del paciente con bacteriemia (MF y sangre) con 92 a 100% de similitud. El cluster III de 2 aislamientos idénticos no estuvo relacionado a los clusters I y II (84% de similitud, 8 bandas) e incluyó un paciente geriátrico. Los perfiles genéticos encontrados en el cluster I y uno del cluster II habían sido identificados en distintas provincias, pero no en CABA, representando patrones de baja frecuencia en la BDN.

Conclusiones: Si bien no se determinó el nexo epidemiológico entre los pacientes, los resultados mostraron 2 clusters altamente relacionados (I y II), incluyendo el caso de bacteriemia. El tercer cluster no relacionado, incluyó el caso del paciente geriátrico relacionado a un brote ETA. Esto sugiere la necesidad de profundizar el estudio filogenético de los aislamientos relacionados de los clusters I y II. El hallazgo de la bacteriemia en el joven, que no demostró tener inmunocompromiso, se observó en el contexto de un aumento de la carga de enfermedad confirmado por el laboratorio.

VI 047

0836 - DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO *NOCARDIA* EN INFECCIONES HUMANAS DURANTE EL PERÍODO 2017-2019 EN ARGENTINA

MARTINEZ, Gisela | MARTÍNEZ, Claudia | CIPOLLA, Lucía | ROCCA, María Florencia | AGUERRE, Lorena | **PRIETO, Monica Alejandra**

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción: El género *Nocardia* comprende 119 especies de las cuales más del 50% han sido asociadas a infecciones en humanos. N*ocardia spp* puede causar infecciones localizadas y también enfermedad diseminada severa. La prevalencia y distribución de las especies de este género varían geográfica y temporalmente. Algunas de las especies presentan un perfil de sensibilidad a los antibióticos predecible, por lo tanto identificar especie correctamente tiene alto impacto clínico Objetivo: Describir la distribución de especies de *Nocardia* asociadas a infecciones en humanos durante el período enero 2017 a abril de 2019 en Argentina.

Caso Clínico: Se estudiaron 93 aislamientos correspondientes a muestras clínicas de 91 pacientes. La identificación se llevó a cabo por secuenciación de los genes 16SrARN y secA y fue comparada con la identificación obtenida por MALDITOF-MS con la base de datos Biotyper (Bruker).

Conclusiones: MALDITOF-MS permitió identificar correctamente las especies *N.cyriacigeorgica, N. farcinica, N. nova* y *N. brasiliensis*. Mostró limitaciones para la identificación correcta de otras especies. En los 54 casos de nocardiosis pulmonar estudiados, las especies prevalentes fueron: *N. cyriacigerogica*(43%); *N. farcinica* (22%) y el Complejo *N. exalbida-gamkensis* (11%). El 24% restante fue identificado como *N. asteroides, N. beijingensis*, Complejo *N. transvalensis* y *N. nova*. Cinco aislamientos arrojaron secuencias con bajos porcentajes de similitud con especies conocidas, pudiendo tratarse de especies aún no descriptas. Los aislamientos asociados a los cuadros de nocardiosis del sistema nervioso central (n=8) fueron identificados como: Complejo *N. abscessus 3; N. farcinica 3;* Complejo *N. exalbida-gamkensis* [1] y *N. cyriacigeorgica* [1]. Se estudiaron 7 aislamientos de esputo de 5 pacientes con fibrosis quística (FQ) recogidos durante episodios de exacerbación pulmonar. Se identificaron *N. cyriacigeorgica, N. farcinica, N. asiática* y Complejo *N. transvalensis*. Tres aislamientos correspondientes a un mismo paciente recolectados durante 2018 y 2019 resultaron Complejo *N. transvalensis*. Los casos de infección localizada en piel y partes blandas (n=19) mostraron una clara prevalencia de *N. brasiliensis* (74%). Otros cuadros clínicos estudiados fueron: absceso de córnea, *N. niigatensis* [2], *N. farcinica* [1] y artritis, *N. farcinica*.

N. cyriacigeorgica fue la especie prevalente en nocardiosis pulmonar como en años anteriores, sin embargo notamos un aumento en el número de casos asociados al complejo N*. exalbida-gamkensis* el cual no presenta patrones de sensibilidad predecibles. Las especies *N. abscessus* y *N. farcinica* son las más frecuentemente aisladas en nocardiosis del SNC mientras que *N. brasiliensis* es la especie definitivamente prevalente en infecciones de piel y partes blandas. Durante este periodo se estudiaron los primeros aislamientos de pacientes con FQ. La implicancia clínica aún debe ser dilucidada. Vigilar la epidemiología de nocardiosis es importante para optimizar la implementación de una correcta terapia antibiótica empírica, dado que la identificación de especie requiere aún de métodos moleculares, disponibles sólo en laboratorios de alta complejidad.

VI 048

0845 - BACTERIEMIAS POR ANAEROBIOS. REPERCUSIONES DEL USO DEL MALDI TOF EN UN HOSPITAL PEDIÁTRICO

MALDONADO, Maria Laura | GARCIA, Maria Eva | REIJTMAN, Vanesa | MASTROIANNI, Alejandra | HERNÁNDEZ, Claudia | LITTERIO, Mirta

HOSPITAL DE PEDIATRIA S.A.M.I.C. "PROF. DR. JUAN P. GARRAHAN"

Introducción y Objetivos: Las bacteriemias en pacientes pediátricos constituyen una emergencia. Los aislamientos de microorganismos anaerobios (MA) representan hasta un 10% de los hemocultivos positivos (HP) y tienen entre un 15-30% de mortalidad asociada. La detección temprana del agente causal tiene vital importancia. La aplicación de técnicas rápidas de identificación bacteriana como la tecnología de MALDI-TOF (MS) de botella positiva y de subcultivos de corta incubación disminuyen el tiempo tradicional de identificación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el impacto de la aplicación de MS en el diagnóstico de bacteriemias por MA.

Materiales y Métodos: Estudio retrospectivo observacional descriptivo desde agosto del 2014 hasta abril del 2019. Se incluyeron todos los aislamientos de MA procedentes de botellas de HP de pacientes pediátricos. Las botellas se incubaron durante 5 a 7 días en sistema BACT-ALERT 3D (bioMériux). En aquellas positivas, mediante el empleo de MS, se procedió a la identificación directa desde la botella o desde la pátina obtenida en Agar chocolate y Agar sangre carnero al 5%, luego de 4 horas de incubación en microaerofilia (procedimiento ID). Las botellas sin identificación directa de un MA fueron subcultivadas en Agar sangre anaerobio suplementado, incubado a 37 ºC en anaerobiosis, para la tipificación por pruebas fenotípicas o MS (procedimiento SA). Se calculó la mediana de tiempo de identificación (M) y el rango intercuartilo (RIC), en días (d) para cada procedimiento.

Resultados: Se identificaron 103 MA, respectivamente por ID (46%) (M: 1d, RIC: 1-2 d) y por SA (54%)(M: 4 d, RIC:2.5-6 d): bacilos gram (+) no esporulados (BGPNE): *Actinomyces viscosus* (10/0), *A. odontolyticus* (1/0), *A. naeslundii* (1/0), *A oris/viscosus* (2/0), *Bifidobacterium sp*. (1/3), *Eggerthella* lenta (1/3), *Cutibacterium acnes* (8/14), *Propionibacterium sp*. (4/1). P. granulosusm (1/0); clostridios: Clostr*idium perfringens* (9/10), *C.* no *perfringens*(0/11); cocos gram (+): *Parvimonas micra* (2/2), *Staphylococcus saccharolyticus* (1/0), *Peptostreptococcus asaccharolyticus* (0/1), bacilos gram (-) (BGN): *Fusobacterium nucleatum* (0/4), *Leptotrichia buccalis* (0/1), *Bacteroides* grupo *fragilis* (BGF): *B. fragilis* (5/2) y *B. eggerthii* (1/0) y cocos gram (-) (CGN) *Veillonella sp*. (0/2).

Conclusiones: Destacamos: 1) la mayor rapidez en la identificación del procedimiento ID (M: 1 día) en comparación con el procedimiento SA (M: 4 días); 2) la alta definición lograda en la identificación a nivel de género y especie entre los BGPNE (N=51): 22 en el ID; 17 en el SA: 3) el diagnóstico limitado de las bacteriemias por clostridios (N=30) en el ID [9] en comparación con el SA (21); 4) las limitaciones en la identificación de clostridios no perfringens, BGN no BGF y CGN en el ID. En nuestra experiencia el mejor diagnóstico de bacteriemias por anaerobios se logró sumando a la rapidez del MS el uso de la botella anaerobia y el subcultivo en anaerobiosis de la misma.

VI 049

0852 - INCIDENCIA DE INFECCIONES POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS, UREAPLASMA UREALYTICUM* Y *MICOPLASMA HOMINISEN* PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE INFERTILIDAD

AGUILAR, Maria Tatiana | BERNASCONI, Carla Beatriz | ARGARAÑA, Maria Fernanda | CUELLO, Veronica Ruth

HOSPITAL J.B ITURRASPE

Introducción y Objetivos: La infertilidad es una enfermedad de múltiples causas que afecta a más de 50 millones de personas a nivel mundial. Las infecciones genitales adquiridas por vía de transmisión sexual y provocadas por *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* son algunas de las causas más importantes de trastornos reproductivos en los últimos años. En la mujer, estas infecciones conducen a enfermedad pélvica inflamatoria (EPI), generando daños permanentes en trompas de Falopio, útero y tejidos circundantes. En el hombre, los micoplasmas genitales son microbiota de la uretra masculina y están presentes en el semen durante la eyaculación, sin embargo, son potencialmente patógenos y juegan un papel etiológico tanto en las infecciones genitales como en la infertilidad masculina, alterando la calidad del semen. La infección por micoplasmas puede reducir la tasa de éxito de los tratamientos de infertilidad altamente especializados y podría causar una marcada reducción del desarrollo embrionario temprano posterior a la fertilización "in vitro". A partir de la sanción de la Ley Nacional 26.842 de Fertilización Asistida y su reglamentación, se puso en práctica en la Provincia de Santa Fe el Programa de Reproducción Humana medicamente asistida, razón por la cual asisten al laboratorio de microbiología pacientes con diagnóstico de

infertilidad para el estudio de infecciones genitales debidas a estos patógenos. El objetivo de este trabajo fue conocer la incidencia de estas infecciones en nuestro medio, en pacientes masculinos (M) y femeninos (F) con historia de infertilidad.

Materiales y Métodos: Se estudiaron muestras de exudados endocervicales y semen de 161 pacientes en un periodo de 33 meses entre 2015 y 2017. Para el diagnóstico se utilizaron las siguientes metodologías: *C. trachomatis* se investigó mediante Real Time PCR, *U. urealyticum* y *M. hominis*, a través del kit diagnóstico MYCOFAST RevolutioN (EliTech Group) basado en cultivo en medio líquido.

Resultados: Se encontraron 105 pacientes sin infección (65%) y 56 pacientes infectados (35%), de éste último grupo 9 muestras resultaron positivas para *C. trachomatis* como única infección (8F y 1M), 15 muestras fueron positivas para M. hominis (15F) y 27 muestras para U. urealyticum (12F y 15M). Se encontró co-infección en 5 pacientes mujeres, 2 con *C. trachomatis-M. hominis*, 2 con *C. trachomatis-U. urealyticum* y 1 con *M. hominis-U. urealyticum*. En nuestro estudio, el microorganismo encontrado con mayor frecuencia fue U. *urealyticum* (18%), seguido por *M. hominis* (10%) y por último *C. trachomatis* (8%).

Conclusiones: Llegar a un correcto diagnóstico y tratamiento de estas infecciones en pacientes que consultan por infertilidad, podría, en muchos casos, evitar el uso de metodologías costosas e invasivas así como disminuir la probabilidad de fracaso de las mismas.

VI 050

0367 - CAENORHABDITIS ELEGANS COMO MODELO DE ESTUDIO DE INFECCIONES PROVOCADAS POR *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

COGLIATI, Sebastián | FRANCISCO, Marcos | CLEMENTI, Victoria | GRAU, Roberto

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Introducción y Objetivos: C. perfringens es el agente etiológico de muchas enfermedades, principalmente debido a que produce un gran número de toxinas, siendo las más importantes, la enterotoxina CPE asociada a la intoxicación con alimentos contaminados y las toxinas perfringolisina O (PFO) y fosfolipasa C (PLC), que provocan gangrena gaseosa. Actualmente, se utilizan mamíferos como modelos para el estudio de las enfermedades producidas por C. perfringens. Por lo tanto, debido a las obvias desventajas y a las implicancias bioéticas, nos planteamos como objetivo analizar la capacidad de otro modelo animal previamente utilizado para el estudio de infecciones bacterianas, el nematodo C. elegans, como modelo de estudio de infecciones clostridiales

Materiales y Métodos: Para determinar si C. perfringens coloniza el intestino de C. elegans, el nematodo fue alimentado con el patógeno marcado con el colorante verde fluorescente FITC. Por otro lado, se co-cultivó a C. elegans con el patógeno en medio líquido y a diferentes tiempos se realizó el recuento de células vegetativas y de esporas intestinales. Para obtener el número de esporas, el homogenado (interior del gusano) fue calentado a 80 °C por 15 min para matar a las células vegetativas. A partir del homogenado, sin calentar, se midió la actividad de las toxinas PFO y PLC, utilizando como sustratos sangre humana y yema de huevo, respectivamente. Adicionalmente, se alimentaron gusanos con Clostridium portadores de fusiones transcripcionales reporteras (cpe-gusA, pfo-gusA y plc-gusA) y se midió la expresión génica (actividad β-glucuronidasa). Finalmente, para determinar el efecto patogénico de C. perfringens, se co-cultivo al nematodo en presencia de C. perfringens y diariamente se contaron gusanos vivos y muertos para calcular la vida media del nematodo. Se realizaron cortes histológicos de C. elegans crecido en presencia del patógeno y se tiñó con hematoxilina-eosina para evidenciar potenciales daños en la anatomía del gusano.

Resultados: Se observó fluorescencia en el intestino de C. elegans y un aumento significativo de las unidades formadoras de colonias de células viables y de esporas de Clostridium en función del tiempo, lo que indica la capacidad de C. perfringens de colonizar a C. elegans. Dentro del gusano se detectó actividad PFO y PLC y aumento de la actividad β-glucuronidasa en función del tiempo. Estos resultados se relacionan con la colonización intestinal del patógeno. La sobrevida de C. elegans alimentados con C. perfringens fue un 60 % menor a la sobrevida de C. elegans alimentados con la cepa control no patógena Escherichia coli OP50. Más aún, los cortes histológicos de gusanos infectados con el patógeno observados por microscopia de contraste de fase presentaron diferencias morfológicas significativas comparado con los gusanos alimentados con OP50 (ej. inflamación del intestino).

Conclusiones: En conclusión, C. elegans podría ser un promisorio modelo para el estudio de las infecciones producidas por C. perfringens.

VI 051

0856 - IMPLEMENTACIÓN DE FILMARRAY: UTILIDAD CLÍNICA DEL PANEL DE SEPSIS EN TERAPIA INTENSIVA

COSTANZO, Noelia | TERZANO, Marina | SCHIJMAN, Mariela

HOSPITAL ALVAREZ

Introducción y Objetivos: Las infecciones del torrente sanguíneo son una de las principales causas de mortalidad y generan altos costos relacionados con la atención médica. Para reducir el impacto del tratamiento inadecuado, es necesario contar con métodos rápidos. El panel FILMARRAY® ID de sangre (BCID) es una PCR multiplex para 21 microorganismos y 3 marcadores de resistencia a antimicrobianos (atb). Objetivos: Determinar el rendimiento del BCID a partir de hemocultivos (HMC). Evaluar el impacto del resultado en el cambio de atb en pacientes con sepsis / shock séptico. Registrar la mortalidad según el mecanismo de resistencia más prevalente.

Materiales y Métodos: Se estudiaron los HMC de pacientes de terapia intensiva (UTI) del Hospital Alvarez desde 01/06/18 al 31/5/19. Se registró atb previo, edad. A los HMC positivos por sistema Bact-Alert® se les realizó Gram, subcultivos en medios convencionales, Vitek2 ®y BCID. Se comunicó el resultado a UTI y se registró si hubo cambios de atb. Se excluyeron cocos gram positivos agrupados, excepto al sospechar sepsis por *S. aureus*. Los mecanismos de resistencia fueron confirmados por métodos estandarizados.

Resultados: Se realizaron 43 paneles BCID correspondientes a bacteriemias de 39 pacientes. El panel BCID detectó 71 microorganismos totales y 26 genes de resistencia, el 50% de los hemocultivos fueron polimicrobianos. En los cultivos desarrollaron 73 microrganismos. Los gérmenes detectados por BCID fueron: *Klebsiella pneumoniae* (20), Estafilococos coagulasa negativa (13), *Enterococcus spp* (11), *Escherichia coli* (6), *Acinetobacter baumannii* (5), *Staphylococcus aureus* (3), Estreptococos sp (2), *Streptococcus pneumoniae* (2), *Enterobacter cloacae* (2), *Proteus spp* (2) y Serratia marcescens, Klebsiella oxytoca, Listeria monocytogenes, Candida albicans, Candida parapsilosis con n=1. Los genes de resistencia hallados fueron 26: KPC (10), mecA (10) vanA (6). La detección global del panel fue del 95.8%, la identificación correcta de microorganismos incluidos en la base de datos fueron 97.8%. No se detectó por BCID género *Streptococcus* ni *Providencia*. Para los tres genes de resistencia la sensibilidad y especificidad fue del 100%. Una vez informado el resultado se suspendieron los siguientes atb: vancomicina (12) meropenem (3) y colistin (2) y se adicionaron los siguientes atb: colistin (8), meropenem (7), linezolid (5), imipenem (3), vancomicina (2) y anidulafungina (1). La mediana de edad fue 62 años, la mortalidad fue del 67% (26). La mortalidad asociada a aislamientos con KPC fue del 80% (8).

Conclusiones: BCID demostró ser una herramienta útil en UTI por el alto grado de detección global que llevó a cambios de conductas en un elevado porcentaje de los casos. El gen de KPC, se encontró en los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* asociandose a elevada mortalidad. Se siguen registrando casos a fin de obtener más datos sobre el desempeño de la metodología.

VI 052

0386 - EVALUACIÓN DE MÉTODOS FENOTÍPICOS DE DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS EN ESPECIES DEL GÉNERO *AEROMONAS*EN UN HOSPITAL GENERAL DE LA ZONA DEL GRAN ROSARIO

REBAGLIATI, Juan Daniel [1] | DALMAN, Maria Del Carmen[1] | GREGORINI, Eduardo[1] | LERMAN TENENBAUM, Damian[2] | LIMANSKY, Adriana[3] | MARCHIARO, Patricia[3] | RINAUDO, Mariángel[4] | **COLOMBO, Laura** [4]

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL ESCUELA EVA PERÓN. GRANADERO BAIGORRIA [1]; SERVICIO DE INFECTOLOGÍA. HOSPITAL ESCUELA EVA PERÓN. GRANADERO BAIGORRIA [2]; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) [3]; ÁREA BACTERIOLOGÍA-DPTO DE MICROBIOLOGÍA-FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS-UNR [4]

Introducción y Objetivos: Muchas de las especies del género *Aeromonas* son patógenos oportunistas emergentes asociados a diversas infecciones, como peritonitis, bacteriemia, infecciones de piel y partes blandas y diarrea. Pueden producir diferentes tipos de beta lactamasas. CphA (Carbapenem hydrolysing *Aeromonas*) es la metalo beta lactamasa (MBL) más prevalente en el género y es activa sólo sobre carbapenemes. Esto es de gran relevancia ya que los carbapenemes son cada vez más usados como terapia empírica en infecciones severas, y la detección de CphA sería importante en aquellas con alta carga bacteriana. Esta MBL no es fácilmente detectada in vitro. Se ha propuesto utilizar un mayor inóculo en las pruebas de Hodge modificado o sinergia con EDTA para lograr evidenciarlas. Los objetivos del trabajo fueron: 1) determinar la utilidad de los valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) por sistema automatizado Vitek-2 y método de difusión con discos aplicados a carbapenemes para sospechar la presencia de carbapenemasas y 2) detectar CphA por distintos métodos: a) fenotípicos: Carba Blue (CB), Método de Inactivación a Carbapenemes (MIC), Hodge Mejorado con Tritón (HMT) y b) genotípicos (detección del gen *cphA* por PCR convencional) evaluando la performance de los mismos en cepas aisladas de distintos materiales clínicos (piel y partes blandas, tejido óseo, heces, sangre, líquido ascítico y minibal).

Materiales y Métodos: A 48 aislamientos recolectados en un período de 48 meses (enero 2015 a diciembre 2018) se les determinó la CIM a imipenem (IMP) y meropenem (MER) por Vitek-2 y se midieron los halos de

inhibición a IMP, MER y ertapenem (ERT) por difusión. Los resultados se interpretaron según documento M45-3rd (CLSI). La producción de carbapenemasa fue ensayada por: CB, MIC y HMT. La presencia del gen *cphA* se investigó por PCR convencional y se consideró como método de referencia. Se utilizaron 4 cepas controles: *A. dhakensis*, *A. hydrophila* y *A. veronii* como controles positivos y *A. caviae* como control negativo.

Resultados: El gen de resistencia a carbapenem *cphA* fue detectado en 41 cepas clínicas. Vitek-2 detectó resistencia a IMP y/o MER en 44 cepas (41 cepas clínicas y las 3 cepas controles positivos de carbapanemasa *cphA*), mientras que el método de difusión solo detectó resistencia y/o sensibilidad intermedia a algún carbapenem en 17 cepas (16 cepas clínicas y la cepa control *A. veronii*). La sensibilidad y especificidad de los métodos fenotípicos de detección de carbapenemasas fue respectivamente: a) CB: 95,5% y 87,5%, b) MIC: 100% y 87,5% y c) HMT: 93,2% y 62,5%.

Conclusiones: Es importante disponer de alguna metodología que permita utilizar métodos fenotípicos de detección de carbapenemasas sensibles y específicos. Vitek-2 tiene mayor sensibilidad (97,7%) que el método de difusión (38,6%) para detectar resistencia a algún carbapenem, observándose en mayor grado en el IMP. Como método fenotípico de detección de carbapenemasas, tanto el CB como el MIC son altamente sensibles y específicos, relativamente económicos y de fácil interpretación.

VI 053

0877 - BACTERIEMIA POR *STREPTOCOCCUS DYSGALACTIAE SSP EQUISIMILIS:* PRESENTACIÓN DE SEIS CASOS

TOGNERI, Ana María [1] | PÉREZ, Marcela[1] | PÉREZ CATALÁN, Sebastian[1] | ROCCA, Florencia[2] | PRIETO, Monica Alejandra[2]

HOSPITAL INTERZONAL GENERAL DE AGUDOS "EVITA" DE LANÚS [1]; INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [2]

Introducción y Objetivos: *Streptococcus dysgalactiae* subsp. equisimilis (SDSE) pertenece al grupo de estreptococos Beta-hemolíticos C-G de Lancefield. Integra la microbiota de faringe, piel, tracto gastrointestinal y genitourinario. Actualmente se reconoce su importancia como patógeno de faringitis y de un amplio rango de infecciones graves. Objetivo: Brindar información sobre 6 casos de bacteriemia por SDSE en pacientes asistidos en el Hospital "Evita" de Lanús.

Materiales y Métodos: Se analizó la información clínica y microbiológica disponible de los pacientes con bacteriemia por SDSE en los últimos 2 años. La identificación a nivel de especie se efectuó con las siguientes pruebas: catalasa (-), producción de la enzima L-pirrolidonil arilamidasa (PYR)(-), sensibilidad (S) a Bacitracina 0,04 UI (-), factor CAMP(-), hidrólisis del hipurato(-), Voges-Proskauer (-) y paneles SMIC/ID-101 del Sistema PhoenixTM 100 V 6.01A (Becton Dickinson, USA). Los aislados se confirmaron en el servicio de Bacteriología Especial (INEI-CG Malbran) por espectrometría de masas MALDI-TOF MS (Microflex LT; software FlexControl V3.1 Bruker Daltonics), pruebas bioquímicas; 3 aislados estuvieron disponibles para estudios de genotipificación. La S a eritromicina (ERY) se estudió por difusión en agar Mueller-Hinton con 5% de sangre ovina. Se ensayaron simultáneamente los discos de clindamicina (CLI) (2 µg) y ERY (15 µg) a una distancia de 12 mm entre cada borde, para inferir los fenotipos de resistencia (R). La concentración inhibitoria mínima (CIM) se determinó por el Sistema Phoenix. Los resultados se interpretaron con el criterio del CLSI.

Resultados: Los aislados se identificados como SDSE basados en las pruebas realizadas. Los episodios de bacteriemia correspondieron a 2 mujeres de 4 y 44 años y a 4 varones de 4, 44, 64 y 65 años. Cinco episodios fueron de origen ambulatorio, 1 asociado al cuidado de la salud. La bacteriemia fue monomicrobiana en los adultos y acompañada por *Staphylococcus aureus* en los niños. Cinco casos se presentaron como sepsis, 1 caso resultó como complicación de la hospitalización. Tres de los 4 adultos presentaron comorbilidades (n): cirrosis (1), diabetes (1), tumor sólido (1). Uno de los niños presentó retraso madurativo. En 5 casos se evidenció un foco asociado a piel y estructuras relacionadas: quemadura (1), maniobra ginecológica (1), amputación de pié diabético (1), celulitis de MMII (1), infección de escara (1). El otro se interpretó como sepsis sin foco. Dos adultos fallecieron en 24h. Los genotipos encontrados fueron: stG2078,0; stG6,0 y stG24. Los 6 aislados fueron S a penicilina (CIM_{50}=CIM_{90}:<0,03mg/l); vancomicina (CIM_{50}=CIM_{90}:<0,25mg/l); lexofloxacina (CIM_{50}=CIM_{90}: 1mg/l); solo un aislado presentó R a ERY y CLI, con fenotipo constitutivo.

Conclusiones: Destacamos la importancia de notificar las infecciones invasivas por SDSE, analizar la sensibilidad antimicrobiana y estudiar el genotipo involucrado, para conocer la epidemiología y magnitud de las mismas.

VI 054

0540 - DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS KPC Y OXA-48 POR PCR DIRECTA EN HEMOCULTIVOS POSITIVOS

NICOLA, Federico | NIEVAS, Jimena | AZULA, Natalia | DANIELA, Aballay | SMAYEVSKY, Jorgelina

CEMIC

Introducción y Objetivos: Las infecciones por organismos multi-resistentes (OMR), en especial las bacteriemias por bacilos gram-negativos (BGN) productores de carbapenemasas, presentan una elevada morbi-mortalidad. El diagnóstico rápido de las bacteriemias y la detección precoz de la presencia de carbapenemasas tienen impacto clínico en el manejo y pronóstico de los pacientes.

Materiales y Métodos: Se desarrolló una PCR multiplex de tiempo final para detección simultánea de los genes *Bla-KPC* y *Bla-OXA-48* con oligonucleótidos específicos y un diseño que no requiere extracción de ADN, efectuándose de manera directa a partir del frasco del hemocultivo positivo. Entre septiembre de 2018 y marzo de 2019, se incluyeron todos los hemocultivos detectados como positivos por el equipo BACTEC FX, en los que se observaron BGN en la coloración de Gram. Las botellas de hemocultivos positivas se procesaron por los métodos convencionales (MC) (coloración de Gram, subcultivos y pruebas de sensibilidad antibiótica (ATB)). Adicionalmente, con alícuotas del caldo de hemocultivo se realizó MALDI-TOF y PCR multiplex para genes *Bla-KPC* y *Bla-OXA-48*. Los resultados del MALDI TOF directo y la PCR se compararon con los resultados obtenidos por los MC.

Resultados: Se estudiaron un total de 100 botellas de hemocultivos positivas con BGN, correspondiendo a 62 episodios de bacteriemias (2 polimicrobianas). En el análisis de datos sólo se incluyó una botella positiva por set de hemocultivos (salvo que tengan diferentes especies). Las bacterias recuperadas fueron: 19 *E. coli*, 16 *K. pneumoniae*, 8 *E. cloacae*, 6 *P. aeruginosa*, 4 *Acinetobacter* spp, 3 *K. oxytoca*, 2 *S. marcescenes*, 1 *M. morgannii*, 1 *Pantoea dispersa*, 1 *P. mirabilis* y 1 *B. cepacia*. En un 91% de los episodios se logró la identificación con el MALDI directo del frasco positivo, no habiendo identificaciones erróneas al compararlo con el MALDI de colonia (subcultivos). En 17 episodios de bacteriemias por BGN se detectó presencia de *bla-KPC* (12 *K. pneumoniae*, 4 *E. cloacae*y 1 *S. marcescens*) y 1 *bla-OXA-48* (1 *S. marcescens*, en set pareado con Kp-KPC). En los restantes 45 episodios de bacteriemias por BGN no se detectaron genes *bla-KPC* ni *bla-OXA-48*.

Conclusiones: Concluimos que la incorporación de la PCR multiplex y la identificación del germen por MALDI TOF, directamente del hemocultivo, representan herramientas útiles para disminuir los tiempos de demora de los diagnósticos de bacteriemias por BGN productores de carbapenemasas KPC u OXA-48, permitiendo ajustar mejor los tratamientos en pacientes complejos.

VI 055
0913 - BACTERIEMIA POR *BACILLUS CLAUSII.* ¿UN PATÓGENO EMERGENTE?

PRIETO, Monica Alejandra [1] | TAMBORINI, Ana[2] | CIPOLLA, Lucía[1] | ROCCA, María Florencia[1] | MARTINEZ, Claudia[1] | ARMITANO, Rita[1]

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; HOSPITAL LUCIO MOLAS [2]

Introducción: La mayoría de las bacterias aerobias esporuladas son saprofitos no patógenos. Aunque se aíslan comúnmente en el laboratorio de microbiología, menos del 5% de los aislamientos son clínicamente relevantes y se comportan como patógenos oportunistas. La transmisión está restringida a la ingestión, inyección, lesión, inhalación u otro contacto con material que ha sido contaminado con esporas o con células vegetativas. Bacillus clausii es un reconocido probiótico y su perfil de seguridad se basa principalmente en que no produce toxinas y no transfiere sus determinantes de resistencia a los antibióticos a otros bacilos esporulados. Las infecciones B. clausii documentadas son muy infrecuentes. El objetivo de esta comunicación es documentar 5 casos de bacteriemia por *B. clausii* ocurridos durante el período 2013-2018.

Caso Clínico: Caso 1: Paciente con diabetes tipo I e insuficiencia renal crónica, ingresó por cetoacidosis y evolucionó a diálisis. Comenzó episodios febriles. *Bacillus sp*. fue recuperado de hemocultivos y retrocultivos. Evolucionó desfavorablemente. Caso 2: Adulto mayor etilista ingresó con ACV isquémico. Fue recuperado *Bacillus sp*. de hemocultivo y se consideró bacteriemia transitoria. Se desconoce tratamiento. Evolución favorable. Caso 3: Paciente politraumatizado, neumonía asociada a ventilación, tratado con piperaciclina+tazobactam+amikacina, a los 7 días rotó a ampicilina+sulbactam por cultivo positivo para H. influenzae. Cumplió 7 días de tratamiento, persistió febril. Se aisló *Bacillus sp*. de hemocultivos y retrocultivos. Evolucionó a hipoxemia refractaria. Obitó. Caso 4: Adulto mayor ingresa por NAC, se aisló *Bacillus sp*. de hemocultivos y retrocultivos. Tratado con vancomicina. Evolucionó favorablemente. Caso 5: Adulto mayor, síndrome polifrerativo. Se recuperó *Bacillus sp*. de hemocultivos y retrocultivos a los 10 días de internación. Tratamiento con vancomicina, evolucionó favorablemente. Los aislamientos fueron identificados como B. clausii por MALDITOF-MS y confirmados por secuenciación parcial del gen 16SrARN. Solo fue posible confirmar la administración de fármacos probióticos con esporas de *B. clausii* en uno de los pacientes un mes antes del aislamiento en sangre.

Conclusiones: El uso de suspensiones orales de probióticos formulados con esporas de *B. clausii* se ha extendido en los últimos años debido a los efectos beneficiosos para la homeostasis intestinal. También ha sido utilizado en pediatría para prevenir infecciones respiratorias recurrentes en niños y en unidades de cuidados intensivos, principalmente en pacientes sometidos a tratamientos antibióticos prolongados. Es importante alertar sobre el uso rutinario de estos productos en pacientes inmunocomprometidos debido a la posibilidad que causen infecciones severas en ciertos tipos de pacientes. Desde el laboratorio es importante registrar el antecedente de consumo de probiótico como factor de riesgo ante el aislamiento de bacilos aerobios esporulados jerarquizados como agentes etiológicos de bacteriemia.

VI 056

0914 - PREVALENCIA Y PERFIL DE SENSIBILIDAD DE ENTEROBACTERIAS RESISTENTES A CARBAPENEMES EN BACTERIEMIAS EN UN CENTRO PRIVADO DE CABA

MERKT, Mariela | BONESI, Lucila | MUJICA, Lucrecia | MAIZTEGUI, Cynthia | PIACENZA, Laura | ALONSO, Miriam | SUCARI, Adriana | **PENNINI, Magdalena Ines**

LABORATORIO STAMBOULIAN

Introducción y Objetivos: La emergencia de Enterobacterias productoras de carbapenemasas representa un desafío debido a las limitadas opciones terapéuticas. La tasa de mortalidad reportada en bacteriemias por enterobacterias KPC varía entre 20-50% según diferentes autores. Instaurar una terapia empírica adecuada de manera temprana es considerado uno los factores importantes que produce reducción en la mortalidad.

Materiales y Métodos: Análisis retrospectivo de los microorganismos aislados de hemocultivos en el período Mayo 2017-Mayo 2019. Se consideró un aislamiento por paciente clínicamente significativo. Las identificaciones y estudios de S se realizaron por Phoenix 100 BD®. La detección fenotípica de carbapenemasas fue realizada según protocolo del instituto Malbran y la S a colistina (COL) por predifusión con tabletas Rosco® según especificación del fabricante.

Resultados: Se documentaron 679 aislamientos significativos de hemocultivos: 414 (61%) bacilos gram negativos (162 E. coli (ECO), 133 *K. pneumoniae* (KPN), 27 *Acinetobacter spp*, 25 *Pseudomonas spp*, 24 *P. mirabilis*, 10 *Enterobacter spp*, 23 otras enterobacterias y 10 otros no fermentadores); 239 (35,2%) cocos gram positivos (74 *S. aureus*, 64 Estafilococos Coagulasa Negativos, 62 *Enterococcus spp*, 26 *S. viridans*, 13 otros cocos gram positivos); y 26 (3,8%) *Candida spp*. De las 352 enterobacterias aisladas 68 (19%) fueron fenotípicamente productoras de KPC: 62 KPN y 6 ECO. No se aislaron otras carbapenemasas. Del total de KPC, 53 (78%) fueron S a COL, 50 (74%) S a fosfomicina (FOS) ,42 (62%) S a amicacina (AK), 17 (25%) S a gentamicina (GEN), 12 (18%) S a ciprofloxacina (CIP), 13 (19%) S a TMS. 42 aislamientos (62%) presentaron CIM a meropenem (MER) mayor o igual a 32 mg/L, 16 (23%) menor o igual a 8mg/L y 10 (15%) igual 16 mg/L De los 42 aislamientos con CIM a MER mayor o igual a 32mg/L, 32 (76%) fueron S a FOS, 28(67%) a COL y 20 (48%) a AK. De los 15 aislamientos resistentes a COL, 11 tuvieron CIM mayor o igual a 32 mg/L a MER ,10 fueron S a AK y 9 S a FOS. 2 de éstos fueron panresistentes (PDR). Los aislamientos resistentes a COL se distribuyeron a lo largo de todo el periodo estudiado sin documentación de transmisión horizontal ni brote. Del total de aislamientos, solo en 5 se realizó CIM a ceftazidima- avibactam por e-test siendo todos S.

Conclusiones: El tratamiento combinado en estos pacientes obliga a la necesidad de evaluar los antimicrobianos disponibles. En nuestro estudio las opciones terapéuticas son AK, COL y FOS, coincidiendo con la bibliografía. El tratamiento empírico inicial combinando con meropenem estaría indicado ya que el 48% de los pacientes tuvieron aislamientos con CIM menor o igual a 16mg/L. Ninguna de las opciones anteriores supera el 75 % de S razón por la cual la incorporación de otros antimicrobianos, como por ejemplo CAZ-AVI podría ser una utilidad en estos pacientes.

VI 057

0935 - HEMOCULTIVOS NEONATALES: ETIOLOGÍA Y TIEMPO DE POSITIVIZACIÓN

SIMONETTO, Antonela | GUTIERREZ, Cesar Ernesto | ARGARAÑÁ, María Fernanda

HOSPITAL J.B ITURRASPE

Introducción y Objetivos: La sepsis es una causa importante de morbimortalidad en recién nacidos hospitalizados en Unidades de Neonatología. La confirmación del diagnóstico se realiza mediante el aislamiento de microorganismos a partir de cultivos de sangre. Los cultivos positivos ayudan a optimizar el tratamiento antibiótico, mientras que los negativos permiten la finalización temprana del mismo. El tiempo de positivización (TTP) del hemocultivo y el microorganismo aislado son dos herramientas que pueden utilizarse tanto para jerarquizar los resultados de estos cultivos como para la suspensión del tratamiento instaurado. Los objetivos de este trabajo fueron: determinar la etiología y el tiempo de positivización de hemocultivos en una Unidad de Neonatología, y establecer el tiempo mínimo de incubación necesario para considerarlos negativos.

Materiales y Métodos: Se analizaron retrospectivamente 643 cultivos de sangre extraídos en la Unidad de Neonatología del Hospital J.B. Iturraspe de la Ciudad de Santa Fe, en el periodo comprendido entre marzo de 2018 y marzo de 2019. El volumen de sangre que se inoculó a cada frasco fue de 1 mL y se utilizó el sistema automatizado BacT/Alert (BioMerieux) para su incubación.

Resultados: Del total de cultivos procesados, 123 resultaron positivos (19%). El 60% fue positivo a Estafilococo coagulasa negativo (ECN), el 11% a bacilos gram negativos (BGN) y el 10 % a Staphylococcus aureus. A las 24 h de incubación se positivizaron 103 muestras (83.7%), a las 48h 118 (95,9%) y a las 72 h 120 (97.6%). Los 3 aislamientos obtenidos de cultivos de sangre que positivizaron luego de las 72 hs de incubación (2.4%) correspondían a (*Micrococcus sp*.). Los microorganismos hallados se agruparon en: patógenos definidos (28), patógenos posibles (79), levaduras [6] y contaminantes [10].

Conclusiones: Los resultados obtenidos sugieren que, en pacientes asintomáticos podría suspenderse el tratamiento antibiótico si el hemocultivo permanece negativo a las 72 h de incubación. Esta información permitiría acortar el tiempo de administración de antibióticos empíricos, reduciendo la presión de selección y la emergencia de resistencia antimicrobiana.

VI 058

0949 - *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, VIRULENCE AND RESISTANCE FACTORS. AN EIGHT YEARS ANALISYS OF INVASIVE INFECTIONS IN A UNIVERSITY HOSPITAL OF SOUTHERN BRAZIL

SOARES DA SILVA, Raquel | CREPALDI DUARTE, Felipe | DANELLI, Tiago | CASONATTO, Alexandre | CARRARO, Diogo César | FERREIRA DE OLIVEIRA, Caio | BODNAR, Giovana Carolina | DE OLIVEIRA, Thilara Alessandra | NAKASATO, Gerson | MEGUMI YAMAUCHI LIONI, Lucy | ECHES PERUGINI, Márcia Regina | FUMIE YAMADA OGATTA, Sueli

STATE UNIVERSITY OF LONDRINA

Introduction and objectives: *Staphylococcus aureus* is a versatile pathogen that can cause a range of infection, since skin and soft tissues until complicated pathologies as pneumonia and bloodstream infection. They could be spread in the environmental, and be responsible for both, community or healthcare-associated infections. Between *S. aureus* those Methicillin Resistant are the major pathogens. *mecA* gene, in the Staphylococcus aureus Methicillin Resistant (MRSA), is inserted in a mobile genetic element (MEG), named Staphylococcal cassette chromosome (SCC*mec*). This element is classified in I to XIII, and could help to identify the origin of the infection (community or healthcare-associated). The aim of this study was to evaluate the molecular characteristics of *S. aureus* isolated from invasive infections.

Materials and methods: A total of 167 isolates of *S. aureus* were collected, over a period of eight years (2010-2018), from clinical samples (blood, bone marrow aspirates and cavity liquids) from patients, hospitalized in a university hospital in southern Brazil, with diagnosis of invasive infection. The identification of the microorganisms was performed using automated BD Phoenix® (Becton Dickinson, Sparks, Md., USA) or Vitek®2 Compact System (bioMeréux) methodologies. SCC*mec* typing and the presence of resistance genes (*mecA*) or virulence, Panton Valentine Leucocidin (*pvl*), Toxic Shock Syndrome (*tsst-1*) and biofilm formation (*IcaA*) was evaluated using multiplex or uniplex PCR methodology.

Results: For *mecA* gene a total of 112/167 (67.1%) samples were positive. The SCC*mec* types was allocated in the following frequencies: Type I 14/112 (12.5%), Type II 53/112 (47.3%), Type III 3/112 (2.7%), Type IV 15/112 (13,4%), Type V 4/112 (3.6%), Type VI 1/112 (0.9%). Between these isolates 13/112 (11.6%) were classified as Non-Typeable (NT). Virulence encoding genes was evaluated in 83/112 (74.1%) MRSA isolates, been *IcaA* 80/83 (96.4%), *tsst-1* 15/83 (18.1%) and *pvI* 29/83 (34.9%) positive. Each virulence encoding gene was crossing with SCC*mec* typing frequence datas. *IcaA* gene was issued in: Type I 14/80 (17.50%), Type II 48/80 (60.00%), Type III 1/80 (1.25%), Type IV 9/80 (11.25%), Type V 2/80 (2.50%), Type VI 1/80 (1.25%) and NT 5/80 (6.25%).For *tsst*-1 the frequencies was Type I 12/15 (80.00%), Type II 1/15 (6.67%), Type III 0/15 (0.00%), Type IV 2/15 (13.33%), Type V 0/15 (0.00%), Type VI 0/15 (0.00%) and NT 0/15 (0.00%) and Type I 0/29 (0.00%), Type II 17/29 (58.60%), Type III 1/29 (3.45%), Type IV 7/29 (24.15%), Type V 2/29 (6.90%), Type VI 1/29 (3.45%) and NT 1/29 (3.45%) for *pvl*.

Conclusions: Of all MRSA strains those who carried SCC*mec* type II, harboring virulence encoding genes *IcaA* and *pvl*, was the most prevalent. These datas are important to show the prevalence of *S. aureus* in invasive infections, to aid in the selection of an adequate therapy, for a better prognosis, and to adopt measures for infection control.

VI 059

0950 - ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE* TOXIGÉNICO POR PCR-RIBOTIPIFICACIÓN: DETECCIÓN DE LA PRIMER CEPA RT027 EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

AZULA, Natalia Soledad | BRAECKMAN, Carlos | LUNA, Silvana | CHALABE, Sofía | UCHIMA, Paula | SANTONI, Gabriela | JORGE, Laura | RELLOSO, Silvia | ROMANO, Vanesa | BONVEHÍ, Pablo | SMAYEVSKY, Jorgelina

CEMIC

Introducción y Objetivos: En los últimos años se ha observado una incidencia creciente de las infecciones por *Clostridioides difficile* (ICD). Las cepas toxigénicas producen una toxina A y una B codificadas en los genes *tcdA* y *tcdB*. Estos genes se encuentran en una región del cromosoma llamada locus de patogenicidad, la cual contiene también el gen *tcdC* que modula negativamente la expresión de los genes *tcdA* y *tcdB*. La caracterización molecular ha permitido el reconocimiento de cepas hipervirulentas, que presentan hiperproducción de toxinas, producción de una toxina binaria (CDT) y en algunos casos deleción en el gen *tcdC*. La tipificación molecular mediante PCR–ribotipificación es una herramienta útil que permite conocer los ribotipos circulantes e identificar aquellos descriptos como hipervirulentos. Los objetivos del presente estudio fueron: 1) caracterizar aislamientos de *C. difficile* toxigénicos por PCR-Ribotipificación mediante electroforesis capilar. 2) conocer los ribotipos circulantes en nuestra institución y 3) evaluar la presencia de ribotipos hipervirulentos.

Materiales y Métodos: Se incluyeron 30 aislamientos de *C. difficile* toxigénicos recuperados de 27 pacientes, entre 17/01/2017 a 05/03/2018 (30 aislamientos correspondieron a 15 episodios de ICD hospitalarios, 8 ICD de inicio comunitario asociado al ámbito de la salud, 4 comunitarios y 3 recurrencias). Los mismos fueron previamente caracterizados mediante cultivo toxigénico, inmunocromatografía y PCR real time. Esta última detecta la presencia del gen *tcdC*, presente en todas las cepas toxigénicas y su deleción. En los aislados que presentaron la deleción se detectaron los genes *cdtA/cdtB*codificantes de la CDT por PCR. Para la ribotipificación se amplificó la región intergénica espaciadora entre los genes codificantes ARNr16S-ARNr23S. Los amplicones se separaron por electroforesis capilar en el equipo ABI310 y analizaron utilizando el software WebRibo para determinar el ribotipo.

Resultados: Los aislamientos se agruparon en 17 ribotipos (RT), siendo los prevalentes: RT106 (n=6) y el RTAI-82/1 (n=3). De los restantes RT, 5 no habían sido reportados anteriormente. Según lo descripto en la bibliografía, 3 RT fueron hipervirulentos, detectándose el primer aislamiento RT027 en nuestra institución. Además, 4 fueron potenciales hipervirulentos, dado que presentaron CDT y deleción en el gen *tcdC* pero aún no se reportaron brotes por los mismos. Por otro lado, identificamos 3 casos de recurrencias: 2 recidivas y una reinfección.

Conclusiones: Se comprobó una gran diversidad de *C. difficile* toxigénicos circulantes. La PCR-ribotipificación es un método útil para estudiar la epidemiología de las ICD. Permite mejorar las estrategias para prevenir la transmisión y diseminación de cepas toxigénicas e hipervirulentas. En este estudio se detectó por primera vez en nuestra institución el RT027, asociado a brotes a nivel mundial.

VI 060

0953 - ESTUDIO PRELIMINAR DE SENSIBILIDAD ANTIBIOTICA "IN VITRO" DE BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES (BNF), EXCLUIDOS *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* Y *ACINETOBACTER* SPP.

VEIGA, Maria Florencia | FAMIGLIETTI, Ángela Mr | ALMUZARA, Marisa N. | VAY, Carlos A.

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Introducción y Objetivos: Los BNF se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y son capaces de sobrevivir en el ambiente hospitalario. Han emergido como importantes patógenos oportunistas, principalmente de adquisición nosocomial y afectando a huéspedes inmunosuprimidos. El objetivo del estudio fue actualizar la sensibilidad "in vitro" de diferentes antimicrobianos sobre aislamientos de BNF excluidos *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. (último estudio año 2005)

Materiales y Métodos: 345 cepas de una colección período 2010-2017 identificadas por pruebas bioquímicas (Wauters y Vaneechoutte) y/o métodos automatizados (VITEK 2 C; MALDI-TOF). La concentración inhibitoria mínima (CIM) se determinó por el método de dilución en agar (técnica y puntos de corte según CLSI 2017 y FDA para tigeciclina).

Resultados: La multirresistencia se observó en *Chryseobacterium spp.*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Myroides* spp., *Empedobacter falsenii*, *Achromobacter* spp., *Alcaligenes faecalis*, complejo *Burkholderia cepacia* (CBC), *Ochrobactrum* spp, *Inquilinus limosus*, *Brevundimonas diminuta*, *Stenotrophomonas maltophilia*, entre otros. Fueron ampliamente sensibles a los antibióticos (ATB) ensayados *Bordetella* spp., *Brevundimonas vesicularis*, *Burkholderia gladioli*, *Shewanella spp.*, *Pseudomonas* grupos *fluorescens*, *stutzeri*, *oryzihabitans* y *pseudoalcaligenes*, *P. luteola*, *Comamonas* spp., *Cupriavidus pauculus* y *Delftia acidovorans*. ATB beta-

lactámicos: ampicilina, ampicilina-sulbactam y cefalotina sólo fueron activos en el segundo grupo, piperacilina-tazobactam en general presentó buena actividad, y en cefalosporinas de espectro extendido se observó en algunos casos, mayor actividad de ceftazidima. Los carbapenemenes, cuando fueron activos, mostraron un patrón imipenem~meropenem>ertapenem, y se confirmaron cepas de los géneros *Pseudomonas/ Brevundimonas* con metalobetalactamasas. Los aminoglucósidos fueron inactivos frente a *D. acidovorans*, CBC, *C. pauculus*, *Achromobacter*spp., *A. faecalis* y 50% de *Comamonas* spp., *P.* grupo *putida* y *B. diminuta*. Las tetraciclinas fueron en general activas (excepto en cepas multirresistentes y *P.* grupo *putida*). Quinolonas fueron eficaces en cepas multisensibles y en *Ralstonia pickettii*, *I. limosus*, *Pannonibacter phragmitetus* y la mayoría de las cepas del género *Pseudomonas*. Fosfomicina soló fue activa frente a *B. gladioli* y el 50% de *R. pickettii*. Se observó cierta actividad de rifampicina en *Brevundimonas* spp., *Chryseobacterium* spp., *Elizabethkingia* spp. y *B. gladioli*. TMS y colistin tuvieron un patrón de actividad variable.

Conclusiones: Al desafío en la identificación debemos también considerar sus resistencias antibióticas naturales y adquiridas, y la gran variabilidad observada intra e interespecie. Resulta indispensable el estudio de sensibilidad en cada caso para el adecuado tratamiento y control de infecciones por estos microorganismos.

VI 061

0958 - INFECCIONES OCULARES: AGENTES ETIOLÓGICOS AISLADOS EN UN HOSPITAL DE SANTA FE

MENDOSA, Maria Alejandra | **NARDÍN, María Elena** | RAMOS, Claudia | MANIAS, Valeria | CRISTOBAL, Sabrina | MACAGNO, Daniela | NAGEL, Alicia

SECCIÓN MICROBIOLOGÍA. LABORATORIO CENTRAL. HOSPITAL DR. J. M. CULLEN

Introducción y Objetivos: Las infecciones oculares pueden presentarse de distinta manera y con diversas manifestaciones. Generalmente se originan por contacto externo afectando el tejido circundante y en ocasiones puede extenderse a espacios internos como córnea, humor vítreo, cámara anterior. El objetivo del trabajo es conocer los principales agentes etiológicos de infecciones oculares y su frecuencia en distintas muestras oftalmológicas.

Materiales y Métodos: Se estudiaron retrospectivamente 136 muestras oftalmológicas: úlceras de córnea (UC), secreciones conjuntivales (SC), humor vítreo (HV), celulitis periorbitarias (CP), abscesos lagrimales (AL), restos de úvea (RU), etc; que fueron remitidas a la Sección de Microbiología del Hospital J. M. Cullen de Santa Fe durante el período comprendido entre el 1 de julio de 2016 y el 30 de junio de 2018. Las muestras se sembraron en agar chocolate, caldo tioglicolato y agar Sabouraud. En usuarios de lentes de contacto, se utilizó además medio mínimo para *Acanthamoeba*. Se realizaron observaciones en fresco y coloraciones.

Resultados: De las 136 muestras procesadas, 42 correspondieron a 2016, 68 a 2017 y 26 a 2018. La distribución total fue: 76 UC, 39 SC, 10 HV y 11 muestras menos frecuentes (CP, AL y RU). El cultivo resultó positivo en 70 de las 136 muestras totales. La mayoría de las muestras remitidas son UC. El aislamiento de hongos filamentosos fue exclusivo de las mismas, recuperándose *Fusarium* sp en 7 muestras, *Aspergillus* sp en 1 y *Curvularia* sp en 1. Las levaduras se aislaron sólo de SC: se aisló 1 *Candida albicans* de un neonato y 1 *Candida parasilopsis* de un adulto. Entre los cocos gram (+) *Staphylococcus aureus* fue el más prevalente en distintos tipos de muestras, incluso en las menos frecuentes: 6 en UC, 3 en SC, 1 en HV y 4 en CP. En cambio entre los bacilos gram (-), los no fermentadores de glucosa se aislaron sólo en UC (6 de *Pseudomonas aeruginosa* y 1 de *Acinetobacter baumannii*) y las enterobacterias en SC de neonatos (1 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella* spp y 2 *Serratia marcescens*) *Listeria monocytogenes* se aisló en una SC de un recién nacido prematuro y *Neisseria gonorrhoeae* en la de un neonato a término. Se aisló *Nocardia* sp en 2 UC y se aisló *Bacillus cereus* en una muestra de UC y en RU del mismo paciente. Se observó la presencia de *Acanthamoeba* sp en 2 UC relacionadas con la utilización de lentes de contacto.

Conclusiones: El conocimiento de la etiología de las infecciones oculares y su frecuencia en las distintas muestras le proporciona al médico oftalmólogo una orientación hacia la mejor terapia empírica para esa población. La importancia de un buen diagnóstico microbiológico es que permitirá establecer un tratamiento antimicrobiano adecuado, lo que producirá la evolución favorable del cuadro clínico, con una mejora en el pronóstico visual y, por lo tanto, en la calidad de vida del paciente.

VI 062

0960 - *SALMONELLA ENTERICA* SER. TYPHIMURIUM: EVOLUCIÓN CLONAL EN AISLAMIENTOS AUTÓCTONOS CON IMPACTO EPIDEMIOLÓGICO

POKLÉPOVICH CARIDE, Tomás | TUDURI, Ezequiel | MORONI, Mirian Patricia | BRENGI, Silvina Patricia | PANAGÓPULO, Marcela | ALCAÍN, Andrea | CATALANO, Florencia | VIÑAS, María Rosa | CAFFER, María Inés | CAMPOS, Josefina

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: En los últimos diez años se ha recibido en el Laboratorio de Referencia Nacional (LRN) INEI – ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" un promedio anual de 579 aislamientos de *Salmonella spp*. origen humano. De acuerdo a los datos de la Red WHO GFN, las serovariedades de *Salmonella spp*. más frecuentemente aisladas en Latinoamérica entre 2005 y 2009 fueron *S. enterica* ser. Enteritidis (SE)(51.0 %) y *S. enterica* ser. Typhimurium (STM)(20.7%). En Argentina, el 27% de los aislamientos recibidos en el LRN entre 2000 y 2008 fueron serotipificados como SE y 21% como STM. Desde el año 2009, la tendencia se revirtió, aumentando el número de STM(26%) en relación con SE (13%). Con el objetivo de estudiar las características de las STM, siendo ésta el serotipo predominante en el país y asociado al mayor número de brotes reportados en el LNR, se realiza el estudio de las mismas con tecnología de Secuenciación de Genoma Completo (SGC).

Materiales y Métodos: Se seleccionaron 100 aislamientos para este estudio: considerando aislamientos "epidémicos" (asociadas a brotes, diseminados ampliamente en distintas regiones y a lo largo del tiempo como agentes causales de enfermedad en el hombre; cepas de origen humano, de alimentos y de animales y pertenecientes a los cuatro patrones predominante de PFGE) y "esporádicos" (raramente aislados de infecciones en humanos). Se realizó la secuenciación de genoma completo con la tecnología Illumina Hi Seq. Para el análisis se utilizó el servidor ubicado en el INEI-ANLIS. Se realizó la confirmación de la identificación del microorganismo (Kraken) y de serotipificación (SEROBA), la búsqueda de genes de resistencia (SRST2 y ARIBA) con distintas bases de datos, la evaluación de la relación clonal mediante el mapeo contra referencia utilizando la cepa LT2 ; (SMALT) con bloqueo de zonas recombinantes (Gubbins) y MLST (ARIBA).

Resultados: Los resultados fenotípicos coincidieron con los obtenidos por SGC, tanto en la serotipificación como en el perfil de resistencia. Se pudo comprabar una correlación entre los patrones de PFGE y los clones detectados por SGC, aunque con un mayor nivel de discriminación en esta última. El ST de todos los aislamientos estudiados menos 4, fue el 19. No se puedo obsevar relación entre los clones considerdos "epidémicos" y la distribución geográfica o el hospedador asociado, así como tampoco al perfil de genes de resistencia, plásmidos o islas de patogenicidad estudiados. Sin embargo, estos clones "epidémicos" se ubican entre los aislamientos recientes, desde la decada 1990 en adelante, mientras que los más antiguos (entre 1969-1993) se ubican en otro cluster bien diferenciado, sugiriendo que los clones considerados "epidémicos" son de reciente introducción.

Conclusiones: La tecnología de SGC permitió el estudio detallado de la principal serovariedad asociada a diarreas en Argentina tanto en su evolución clonal como en su caracterización genómica de distintos elementos asociados como genes asociados a resistancia y distintos elementos móviles.

VI 063
0961 - COQUELUCHE EN ADOLESCENTES Y ADULTOS

LARA, Claudia | TRISTÁN, Mariano | ZINTGARFF, Jonathan | CADARIO, María Estela | REGUEIRA, Mabel

SERVICIO BACTERIOLOGIA CLINICA, INEI-ANLIS"DR. CARLOS G. MALBRAN"

Introducción y Objetivos: Coqueluche es una enfermedad respiratoria inmunoprevenible causada principalmente por *B. pertussis*. Ni la infección natural, ni las vacunas disponibles confieren inmunidad de por vida. Si bien la letalidad de esta patología es considerablemente superior en los menores de un año, la morbilidad puede ser sustancialmente alta en adolescentes y adultos. Otro factor crucial es que los adultos son una fuente importante de diseminación de la enfermedad, especialmente a los más susceptibles. El objetivo de este trabajo es describir los casos de coqueluche en adolescentes y adultos estudiados en el periodo 2016 a 2018.

Materiales y Métodos: Desde enero de 2016 a diciembre de 2018 se recibieron 104 muestras de casos con sospecha de coqueluche, de pacientes entre 12 y 80 años. Los casos provenían de Santa Fe, Entre Ríos, Neuquén, La Pampa, Mendoza, San Juan, San Luis, Chubut, Buenos Aires y CABA. Se solicitaron muestras nasofaríngeas, si no habían transcurrido más de 14 días de tos, para el diagnóstico mediante cultivo en medio Regan Lowe y PCR para los blancos específicos IS481 (Glare *et al.*), promotor del gen de la toxina pertussis (Grimprel E. *et al.*) e IS1001 (Lind-Brandberg Lena *et al.*). Se solicitó muestra de suero si habían transcurrido más de 14 días de tos y se empleó un ELISA altamente sensible y específico para detectar IgG anti-toxina pertussis (IgG-anti TP), utilizando el protocolo desarrollado por el CDC, calibrado con el Estándar de Referencia de la OMS (06/14). Los resultados se expresaron en UI/ml. Se consideró positivo un valor superior a 94 UI/ml. La sensibilidad de Bp se estudió por el método de dilución en agar. Se notificaron los resultados a SIVILA y SNVS 2.0.

Resultados: Del total de muestras estudiadas se obtuvieron 31 casos positivos, lo que corresponde a una proporción del 29.8%. Se confirmaron 2 casos mediante PCR (tenían 4 y 5 días de tos y en uno de ellos además se aisló Bp) y 29 casos mediante ELISA IgG-anti TP. Los resultados de la serología estuvieron comprendidos entre 104 UI/ml y >480 UI/ml. La media de la edad de los casos positivos fue 34 años (12-67 años). Se detectaron casos en todos los grupos etarios, excepto en los mayores de 70 años. Los signos y síntomas

observados fueron: paroxismos 97%, vómitos postusivos y síntomas catarrales 39%, estridor inspiratorio y apnea en 22.5%, y cianosis 6.5%. La media de días de tos fue 26. La neumonía fue la complicación en el 10% de los casos. Un solo paciente requirió hospitalización. El aislado Bp fue sensible a eritromicina y azitromicina.

Conclusiones: En la Argentina, al igual que en otros países, coqueluche afecta a adolescentes y adultos. De acuerdo al tiempo que transcurre entre el inicio de la enfermedad y la consulta médica en la que se sospecha esta patología en este grupo etario, la detección de IgG anti PT resulta ser una herramienta efectiva en el diagnóstico. De igual modo el cultivo y la PCR son útiles si transcurrieron pocos días de tos. La mayoría de los casos detectados presentaron paroxismos, esto podría ser indicio de subdiagnóstico en casos con sintomatología más leve.

VI 064
0965 - CARACTERIZACIÓN DEL BROTE DE LINFOGRANULOMA VENÉREO ANORRECTAL EN BUENOS AIRES, PRESENCIA DE LOS GENOTIPOS L1, L2 Y L2B

ENTROCASSI, Andrea Carolina[1] | BÜTTNER, Karina Andrea[1] | LOPEZ AQUINO, Deysi[2] | CAFFARENA, Dolores[3] | LA ROSA, Luciana[3] | SVIDLER LOPEZ, Laura[2]| **RODRIGUEZ FERMEPIN, Marcelo** [1]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, INFIBIOC. INSTITUTO DE FISIOPATOLOGÍA Y BIOQUÍMICA CLÍNICA. [1]; HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS DR. JUAN A. FERNÁNDEZ [2]; CENTRO PRIVADO DE CIRUGIA Y COLOPROCTOLOGÍA [3]

Introducción y Objetivos: El linfogranuloma venéreo (LGV) es una enfermedad sistémica transmisible sexualmente causada por los genotipos L1, L2, L3 y sus variantes del biovar LGV de *Chlamydia trachomatis*. En el año 2003 se informó en Países bajos la aparición de un brote por cepas del biovar LGV, en cuadros clínicos de localización anorrectal y presentación diferente a la forma inguinal clásica, en pacientes hombres que tienen sexo con hombres (HSH) en su mayoría infectados por HIV. Desde entonces se reportaron brotes similares en toda Europa, y el genotipo involucrado fue el L2b. La prevalencia de la infección anorrectal por *C. trachomatis* en la Argentina se desconoce. El objetivo de este trabajo fue investigar la infección por *C. trachomatis* en pacientes con síntomas de proctitis y caracterizar las cepas involucradas.

Materiales y Métodos: El estudio incluyó pacientes mayores de 18 años con sintomatología compatible con proctitis que concurrieron a consulta al Consultorio de Coloproctología del Hospital Fernández, y al Centro Privado de Cirugía y Coloproctología, entre el 31/8/2017 y el 31/08/2018. Se tomaron muestras de hisopado anorrectal para la búsqueda de *C. trachomatis*. Se realizó la extracción del ADN de las muestras y luego una PCR en tiempo real dirigida a un fragmento del plásmido críptico. Las muestras positivas se genotipificaron por PCR-RFLP. El genotipo se confirmó mediante la secuenciación del gen ompA.

Resultados: Durante el período en estudio ingresaron 89 pacientes con sintomatología compatible con proctitis (81 HSH, 5 mujeres trans y 3 mujeres). Se detectó *C. trachomatis* en 44 de ellos (49,44 %) (42 HSH y 2 mujeres trans). En 3 muestras el resultado fue indeterminado. En el 86,36 % de las muestras positivas (38/44) se detectó el biovar LGV. Todos los pacientes con Linfogranuloma Venéreo eran HSH, con una mediana de edad de 36 años. El 86,84 % tenía infección por HIV (versus 75,28 % del total estudiado). Los genotipos no LGV correspondieron a: J [2], D [1], G [1], H [1]. Una muestra presentó dos genotipos al mismo tiempo, Ja y uno no tipificable. La secuenciación del gen ompA permitió confirmar y subtipificar los genotipos de LGV presentes. Los genotipos caracterizados correspondieron a L2b: 20 (52,63 %), L2: 9 (23,68 %) y L1: 8 (21,05 %). Una de las muestras secuenciadas no pudo ser analizada de manera concluyente.

Conclusiones: Este estudio permitió detectar un brote de LGV con manifestaciones anorrectales en Buenos Aires, principalmente en HSH HIV positivos. Si bien el genotipo predominante coincidió con el genotipo detectado en el brote europeo (L2b) se detectó la presencia del genotipo L2 clásico en casi un cuarto de las muestras y se demostró la circulación del genotipo L1 que no había sido descripto previamente. La proctitis por *C. trachomatis* es una forma de presentación emergente del LGV en Buenos Aires y debe ser correctamente caracterizada con fines epidemiológicos y terapéuticos.

VI 065
0976 - *BORDETELLA PARAPERTUSSIS* COMO AGENTE CAUSAL DE COQUELUCHE

TRISTÁN, Mariano Oscar | ARIAS, Maite Belén | GRUPO DE TRABAJO DE COQUELUCHE DE, Rnl | LARA, Claudia

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Coqueluche es una enfermedad respiratoria aguda causada principalmente por *B. pertussis* (Bp) y en menor medida por *B. parapertussis* (Bpp). Este último agente es responsable de un cuadro clínico idéntico o más leve, aunque se han descripto casos graves con riesgo de vida. Los signos-síntomas son

indistinguibles a los producidos por Bp y generalmente no se realiza la confirmación del laboratorio, por esta razón la epidemiología de la enfermedad causada por Bpp es poco conocida. El objetivo del presente trabajo es describir los casos de Coqueluche causados por Bpp en muestras respiratorias estudiadas durante los años 2013-2018.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 3477 muestras de pacientes con sospecha de Coqueluche provenientes de CABA, conurbano bonaerense, Entre Ríos, Misiones, Chaco, San Luis, San Juan y Santa Cruz, recibidas durante el periodo 2013-2018. Se recolectó la información clínica-epidemiológica de todos los casos. Para el diagnóstico a partir de aspirado nasofaríngeo de niños, adolescentes y adultos se empleó: cultivo en Regan-Lowe, *single* PCR para detectar-confirmar Bp: IS481 (Glare, *et al.* y promotor del gen de la toxina pertussis (TP) (Grimprel, *et al.*); *single* PCR para detectar Bpp (Lind-Brandberg Lena *et al.*) y PCR en tiempo real para confirmar Bpp y *B. holmesii* (Bh) (Tatti, *et al.*). Las colonias macroscópicamente compatibles con *Bordetella* spp. se identificaron por PCR y MALDI-TOF sumado a pruebas bioquímicas complementarias. Se estudió la sensibilidad a macrólidos de los aislados de Bpp mediante dilución en agar.

Resultados: Del total de muestras analizadas se detectaron 495 casos de Coqueluche. Se confirmó Bpp como único agente causal de Coqueluche en 12 casos y se detectaron 6 co-infecciones Bp-Bpp. La proporción de casos positivos para Bpp fue 3.6% (18/495). En 2018 se observó mayor número de casos (n=8) que en el resto de los años del periodo estudiado. El rango etario de pacientes con Bpp estuvo comprendido entre 1 mes y 8 años, el 61% de los casos se presentó en menores de un año. Trece casos (72,2%) correspondieron al sexo masculino. Los signos-síntomas en casos positivos sólo para Bpp fueron: tos (100%), paroxismos (54.5%), vómitos pos-tusivos (18.2%), cianosis (46%), estridor inspiratorio (18.1%), síntomas catarrales (81.8%), y en el 54% de los mismos se requirió su internación (mayormente en menores de 6 meses). Los aislamientos recuperados (n=6) fueron sensibles a Azitromicina (0.06 µg/ml) y Eritromicina (0.016 - 0,125 µg/ml).

Conclusiones: Si bien Bp es el principal agente causal de la Coqueluche, resulta de suma importancia mantener la vigilancia de Bpp ya que es capaz de producir un cuadro clínico que, sólo a veces, es más leve, causar co-infecciones junto a Bp y provocar brotes, teniendo en cuenta que la inmunización no da protección cruzada.

VI 066

0884 - DIAGNÓSTICO DE ESCHERICHIA COLI DIARREIGÉNICO ASOCIADO A DIARREA Y SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO (SUH) DURANTE EL AÑO 2018.

MILIWEBSKY, Elizabeth | CARBONARI, Claudia Carolina | DEZA, Natalia | ALBANESE, Adriana | MANFREDI, Eduardo | BASCHKIER, Ariela | PUTZOLU, Karina | MASSA, Rosana | RIVAS, Marta | CHINEN, Isabel

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: Se denomina *Escherichia coli* diarreigénico (DEC) se caracteriza por su capacidad de causar síndromes diarreicos y es de importancia por la morbi-mortalidad que produce fundamentalmente en países en vías de desarrollo. Se reconocen cinco categorías de *E. coli* enteropatógeno (EPEC/eae), enterotoxigénico (ETEC lt/sth/stp), enteroinvasivo (EIEC/ IpaH), enteroagregativo (EAEC/ aggr) y productor de toxina Shiga (STEC/stx). Una sexta categoría, *E. coli* de adherencia difusa, es aún discutida. El diagnóstico de DEC no se puede realizar por métodos fenotípicos convencionales, ya que en general presentan características bioquímicas indistinguibles de otras cepas E. coli. Es necesario disponer de técnicas moleculares para la detección de factores de virulencia. El Laboratorio de Referencia utiliza 3 PCRs múltiple (mPCR): mPCR-1 (rfbO157/ stx1/ stx2), mPCR-2 (eae/lt/stp/sth) y mPCR-3 (IpaH/aggr), para el diagnóstico y confirmación de las categorías de DEC. El objetivo de este estudio es presentar los resultados de la detección de DEC utilizando mPCR-1 mPCR-2 y mPCR-3 a partir de muestras de materia fecal (MF) de pacientes con diarrea (D), diarrea con sangre (DS) y SUH derivadas para su diagnóstico en el marco de la vigilancia durante el año 2018.

Materiales y Métodos: Se analizaron muestras de un total de 213 casos de D (n=52), DS (n=65), SUH (n=92) y sin diagnóstico (SD n=4). Las MF se sembraron en forma directa y después del enriquecimiento en placas de agar MacConkey con sorbitol (SMAC) y luego incubadas a 37ºC por 18 h. Se tomó muestra de la zona de crecimiento confluente de las placas de SMAC; para extracción de ADN y posterior realización de las técnicas de mPCR. Ante una señal positiva por mPCR se procedió al aislamiento de la colonia individual. Para identificar posibles cepas del patotipo emergente EAEC-Stx, las colonias que resultaron ser aggr, fueron ensayadas por PCR para el gen stx.

Resultados: De los 213 casos (200 casos asociados a un patógeno y 13 co-infecciónes) se aislaron 226 cepas de DEC con la siguiente frecuencia: STEC (65%), EAEC (21,2%), EIEC (3,5%), ETEC (3,1%), *E. coli* O157 no toxigénica (3,1%), EPEC (2,7%) y EAEC-Stx (1,3%). En los casos con un único patógeno de D, DS, SUH y SD se detectaron cepas [STEC (20), EAEC (15), ETEC [5], EPEC [4], E. coli O157 no toxigénico [3] y (EIEC [1]]; [STEC (48), EAEC [9], EIEC [4] *y E. coli*O157 no toxigénico [1]]; [STEC (68), EAEC (15), EAEC-Stx [2] y ETEC [1]]; [EAEC [2], EPEC [1], y STEC [1]]; respectivamente. En 13 casos se detectaron las co-infecciones de EAEC/STEC (SUH=3; DS=1; D=1); *E. coli* O157 no toxigénico/STEC (SUH=1; DS=2), EAEC/EIEC (D=2), EAEC-Stx/STEC (SUH=1), EIEC/STEC (SUH=1) y ETEC/EPEC (D=1). Las cepas STEC O157 (84) presentaron los siguientes perfiles de

toxina: stx2 (n=83), stx1/stx2 (n=1) y las STEC no-O157 (56) los perfiles stx2 (n=52), stx1 (n=3) y stx1/stx2 (n=1).

Conclusiones: Se destaca la importancia de la implementación de técnicas moleculares para la detección de DEC, ya que de otra manera muchas infecciones intestinales quedarían sin diagnosticar.

VI 067

0986 - PREDICCIÓN DE RESISTENCIA A COLISTINA POR MCR-1 EN *ESCHERICHIA COLI* USANDO MALDI-TOF MS

FIGUEROA ESPINOSA, Roque Arnulfo [1] | COSTA, Agustina[2] | GONZÁLEZ, Edgar[3] | VAY, Carlos[4] | GUTKIND, Gabriel[1] | DI CONZA, José[1]

LABORATORIO DE RESISTENCIA BACTERIANA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UBA - CONICET [1]; LABORATORIO DE RESISTENCIA BACTERIANA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UBA - ANPCYT [2]; LABORATORIO DE RESISTENCIA BACTERIANA - FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA - UBA [3]; HOSPITAL DE CLÍNICAS "JOSÉ DE SAN MARTÍN" [4]

Introducción y Objetivos: La colistina ha resurgido como un antibiótico de última línea en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias resistentes a carbapenemes. En el 2015 se describió el primer caso de resistencia plasmídica a colistina (*mcr-1*). La rápida detección de este mecanismo es crítico para el manejo de pacientes. Hoy día se emplean métodos fenotípicos que requieren 24 horas de incubación adicionales, posterior al aislamiento de la bacteria. En este trabajo nos propusimos buscar biomarcadores usando MALDI-TOF MS para predecir la resistencia a colistina por el gen *mcr-1* mediante el análisis visual de los espectros en el rango de identificación.

Materiales y Métodos: Se compararon espectros de proteínas de 48 aislamientos clínicos de *E. coli* caracterizados previamente. Un grupo con *mcr-1* (17) y otro sensibles a colistina (31): bla_{KPC}-2 positiva [3], productores de BLEE (14) y portadores de otros tipos de genes de resistencia (14). Como control positivo se usaron dos cepas transconjugantes que portan el gen de resistencia *mcr-1*. La adquisición de los espectros se realizó mediante el sistema MALDI Biotyper en el equipo MALDI-TOF MS LT, con la matriz HCCA en el rango de 2.000 a 20.000 Da, partiendo de colonia posterior a extracción de proteínas. Se usó el programa flexAnalysis para el análisis visual de los espectros y ClinProTools 3.0 para identificar posibles biomarcadores de resistencia. Se realizó un análisis de secuencias de 10 plásmidos que portan *mcr-1* de Argentina empleando herramientas bioinformáticas disponibles on-line.

Resultados: Al realizar la comparación visual de los espectros entre las cepas transconjugantes y su receptoras, se identificó un pico de c.a. *m/z* 6.650 Da únicamente en las cepas resistentes a colistina. Este pico está presente en los espectros de los aislamientos salvajes de *E. coli* productores de MCR-1, y ausente en las cepas sensibles a colistina (MCR-1 negativas). Obteniendo 100% de sensibilidad y 95% de especificidad con un valor de área bajo la curva de 0.98. Del análisis comparativo de plásmidos se encontró un gen (*ycfA*) que codifica una proteína del sistema Toxina-Antitoxina con peso molecular teórico de 6.648 Da en todos los plásmidos, pudiendo corresponder al pico detectado.

Conclusiones: Si bien los resultados son preliminares la visualización del pico de ~6.650 Da en el espectro de identificación puede ser un método rápido para predecir la resistencia a colistina en cepas endémicas de *E. coli* productoras de MCR-1. La detección de este biomarcador no requiere reactivos ni procedimientos adicionales a los usados para la identificación, lo que hace probable que estos protocolos sean de rápida incorporación a la práctica diaria de la microbiología clínica. En regiones con plásmidos con características similares, este biomarcador podrá ser usado como predictor de resistencia a colistina.

VI 068

0994 - RELEVAMIENTO DE BACTERIAS MULTIRESISTENTES EN EL MARCO DEL PLAN PROVINCIAL DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE IACS Y USO ADECUADO DE ANTIMICROBIANOS EN NEUQUÉN.

NÚÑEZ, María Rosa[1] | SAIZ, Mónica[2] | GONZALEZ, Valeria[3] | SAUER, Herman[4] | GUYOT, Teresita[5] | ETCHENIQUE, Luz[6] | ARIAS, Alejandra[7] | LACRUZ, Verónica[8] | **SUCARI, Adriana** [9]

HOSPITAL PROVINCIAL NEUQUEN "DR. CASTRO RENDON" [1]; CLÍNICA PASTEUR [2]; POLICLÍNICO ADOS [3]; HOSPITAL HELLER [4]; HOSPITAL CENTENARIO [5]; HOSPITAL PLOTTIER [6]; CMIC COMAHUE [7]; HOSPITAL BOUQUET ROLDAN [8]; FUNCEI - LAB. STAMBOULIAN [9]

Introducción y Objetivos: La incidencia de infecciones asociadas a cuidados de la salud es elevada en el mundo y en nuestra región, con un aumento de la resistencia (R) de las bacterias a los antibióticos disponibles. En 2018, como una iniciativa del Ministerio de Salud de la provincia de Neuquén y en colaboración con FUNCEI,

se implementó un Plan Provincial de Prevención y Control de IACS y Uso Adecuado deAntimicrobianos, que se lleva a cabo en 8 establecimientos con internación de la ciudad de Neuquén, Centenario y Plottier. El objetivo en 2018 para los laboratorios de Microbiología fue registrar bacterias con determinados mecanismos de R con el fin de conocer la prevalencia y circulación de bacterias multirresistentes.

Materiales y Métodos: Se registraron en forma prospectiva trimestral los aislamientos de *S. aureus* (SA) meticilino resistente (MR), *Escherichia coli* (ECO) y *Klebsiella pneumoniae* (KPN) productoras de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE) y resistentes a carbapenemes (CRE), *Pseudomonas aeruginosa* (PAE) R a ceftacidima (CAZ) y carbapenemes (Carb) y *Acinetobacter* spp (Aci) R a Carb y colistina. Se registró el % total y discriminado por tipo de muestra: sangre (Sg), respiratoria (Resp), orina (Ori), herida quirúrgica (HQ) y otros (O).

Resultados: De 413 SA reportados, el % de MR fue 22%. La R según tipo de muestra fue: Sg 23%, HQ 18% y otros 24%. En 6 de los 8 centros se aisló SAMR, con mayor proporción en los 3 centros de alta complejidad. De 2127 ECO, se detectó BLEE en 178 (8,4%) y solo 2 aislamientos CRE (con KPC). De 597 KPN, se detectó BLEE en 210 (35,2%) y CRE en 74 (12,4%) con predominio de KPC. Distribución de KPN CRE: Ori 55%, Sg 14%, HQ 11%, Resp 9% y O 11%. De los 8 centros, solo 1 no tuvo ningún aislamiento CRE a lo largo del año mientras que el mayor número se observó en los 3 centros de alta complejidad. En PAE se observó menor resistencia a CAZ (23%) que a Carb (38%), aislándose en 7 de los 8 centros. No se detectó R a Carb mediada por carbapenemasas. En Aci no se detectaron aislamientos R a colistina y la R a Carb fue del 77%. Solo se aisló Aci en los 3 centros de alta complejidad.

Conclusiones: De los resultados obtenidos se desprende que la prevalencia de aislamientos con alguno de los mecanismos de R relevados se correlaciona con los datos nacionales, siendo un poco menor a la media nacional reportada en la Red Whonet. KPN CRE se aisló en el 12,4% de muestras clínicas, por lo que es importante elaborar un programa para reducir las infecciones por estos microorganismos debido a las escasas opciones terapéuticas y a la elevada mortalidad que poseen. Si bien la prevalencia de CRE es mayor en los 3 centros de alta complejidad, es importante que todos de los centros estén en estado de alerta ya que KPN CRE es endémico en la ciudad. Estos resultados son de suma importancia para la confección de guías locales de tratamiento empírico inicial y manejo de los pacientes.

VI 069

1007 - DISFUNCIONES VAGINALES EN MUJERES EN EDAD FÉRTIL EN UN HOSPITAL PÚBLICO DE COMODORO RIVADAVIA, CHUBUT

BERNALDO DE QUIROS, Marcia Alejandra [1] | CUIZA, Soledad[2] | MAMY, Gisela[1] | ORTIZ, Susana[1] | NICKELS, Noelia[1] | PEREYRA, Elsa[2] | YONES, Cristian[2]| FOCHS, Sonia[2] | ESTEVAO BELCHIOR, Silvia[1]

HOSPITAL REGIONAL "DR. SANGUINETTI" COMODORO RIVADAVIA [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PATAGONIA SAN JUAN BOSCO [2]

Introducción y Objetivos: Entre un 20% a 30% de mujeres en edad fértil (MEF) desarrolla un estado de disfunción vaginal (DV).El objetivo del trabajo fue estudiar las DV en una población de MEF de Comodoro Rivadavia.

Materiales y Métodos: Se desarrolló un diseño epidemiológico observacional, transversal de MEF que asistieron a un centro público de salud.La toma de muestra y análisis de los contenidos vaginales (CV) se realizaron según la metodología del manual de procedimientos de balance de contenido vaginal.En función del valor numérico de Nugent (VN), presencia o ausencia de reacción inflamatoria vaginal (RIV) y células guía se establecieron los estados vaginales básicos (EVB).Se analizaron datos referentes a EVB; MEF o embarazada (EMB);presencia o ausencia de Trichomonas vaginalis (Tv) o levaduras (Lev);de anticoncepción y sintomatología.Las significancias estadísticas entre cada EVB y el resto de las variables fueron analizadas por un test de Fisher con un nivel de significancia de 0,05.

Resultados: Se analizaron 150 CV de MEF (38,7%) y EMB (61,3%). En MEF, el 33 % presentó microbiota normal (MN). Las DV se distribuyeron de la siguiente forma: microbiota intermedia (MI) 31%; vaginosis bacteriana (VB) 22%; presencia de RIV asociada a MN 3%; RIV con VN de 4-6 un 2% y RIV con VN de 7-10 en un 9%.El 24% de MEF presentó síntomas como leucorrea, escozor o prurito.En EMB el 48% de los CV se clasificaron como MN y las restantes presentaron alguna disfunción vaginal. MI en el 10%; VB 22%;presencia RIV con MN se presentó en el 7%;RIV con VN 4-6 10% y RIV con VN de 7-10 3%.El 34% de EMB presentó síntomas como prurito, disuria, escozor, leucorrea y dispareunia.En los EVB con MN,se observó una menor proporción de Tv en forma estadísticamente significativa (p 0,014 - OR 0,17).En la franja de EVB con RIV y VN 4 a 10 y 7 a 10 la presencia de Tv fue estadísticamente significativa; p 0,0013-OR 11,3 y p 0,0014-OR 10,5 respectivamente.En relación a los métodos anticonceptivos,se detectó una tendencia a la asociación de uso de preservativo con EVB de MN (p 0,08 - OR 7,33). En el análisis de asociación de EVB con síntomas, en las pacientes que presentaron MI fue frecuente la dispareunia,existiendo una tendencia a la asociación entre ambas (p 0,09 – OR 9,10).La asociación detectada del EVB con VN de 4-6 más RIV con leucorrea (p 0,0015 – OR 9,26), con escozor (p 0,05 – OR 3,95) y con prurito (p 0,034 – OR 4,75) evidencia una relación con procesos inflamatorios.Los contenidos vaginales con VN de 7-10 más RIV están significativamente asociado al síntoma de

leucorrea.Este EVB también está asociado al síntoma de prurito en numerosas pacientes con un OR de 7,19.Por otra parte existe una tendencia a la asociación entre el grupo de estudio de mujeres EMB y los casos de MN, con un OR>1. Es decir, que numerosos casos del grupo de estudio de mujeres EMB presentaron MN en comparación de los demás EVB.Los casos de MI no fueron frecuentes en mujeres EMB (con un OR<1 de 0.27), sin embargo existe una elevada asociación de este EVB en el grupo de estudio de MEF (OR 3,14).Se observó una tendencia a la asociación entre el grupo de estudio de mujeres EMB y el EVB con VN 4-6 más RIV (OR 6,13) probablemente asociado a vulvovaginitis por levaduras.

Conclusiones: En MEF, en el 67 % se diagnosticó algún grado de DV, siendo la más frecuente MI. En EMB el 52% presentó DV, disminuyendo la frecuencia de mujeres con MI y con una tendencia al aumento de la frecuencia de MN probablemente debido a un perfil hormonal sistémico favorable durante el embarazo.

VI 070

1009 - ACTINOMICOSIS VERSUS LINFOMA: PRESENTACIÓN DE UN CASO

TACCHINI, María Del Mar | BARTOLI, Claudia | ZAMPINI, Gustavo | TORTONE, Marcos | FIGUEROA, Myrian

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA, HOSPITAL MISERICORDIA NUEVO SIGLO

Introducción: *Actinomyces odontolyticus* (Ao) es un bacilo gram positivo, no esporulado, anaerobio facultativo, habitual de la microbiota orofaríngea. Puede causar actinomicosis cervicofacial cuando existe higiene bucal deficiente o traumatismo de la mucosa oral.

Caso Clínico: Paciente femenina de 21 años consulta por dolor en hemicráneo izquierdo de 48 hs y fiebre 39°C de 12 hs de evolución. Examen clínico: taquicardia, adenopatía indurada submandibular izquierda con dolor a la palpación, inflamación y rubor. Laboratorio: leucocitosis con neutrofilia, anemia y PCR elevada. Serología negativa para hepatitis B, C y VIH. Radiografía de tórax: sin particularidades. TAC maxilo facial y cuello: colección periarticular versus edema premandibular. Ecografía: lesión ocupante en maxilar izquierdo, bordes definidos de contenido líquido. Adenomegalias submaxilares y de la cadena cervical lateral con pérdida de su anatomía. Refiere extracción del 3º molar inferior izquierdo 7 días previos. Diagnóstico presuntivo: absceso periodontológico vs tumor. Se solicitaron hemocultivos y se inició tratamiento con ampicilina-sulbactan y clindamicina. Se envió material purulento a microbiología. En aerobiosis se identificó *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus mitis/oralis* y a las 36 hs en anaerobiosis desarrollaron bacilos gram positivos identificados en Vitek 2c como Ao. Sin desarrollo para hongos y micobacterias. A los 3 días se punzó por dolor persistente desarrollando nuevamente Ao. A la espera del resultado final de microbiología se dio el alta con clindamicina. A los 20 días se solicitó a la paciente internación para realizar el tratamiento de elección con penicilina G. Al re ingreso, presentó dolor precordial retroesternal exacerbado ante movimientos. TAC de tórax y adenopelviana: masa en contacto con pared costal, hepatomegalia y dilatación de las vías intrahepáticas. Biopsia de ganglios supraclaviculares derechos: procesos linfoproliferativos. PMO: medulograma sin cambios displásicos ni células atípicas. Cultivo de MO: Estéril. Diagnóstico: Linfoma No Hodgkin (LNH). Comenzó tratamiento con amoxicilina y quimioterápico.

Conclusiones: De acuerdo con la bibliografía la paciente presentó actinomicosis cervicofacial del maxilar inferior izquierdo. La pérdida de articulación y estructura ósea observada demostró la cronicidad del proceso. Al no contar con biopsia del maxilar, no quedó claro si se debió a un foco metastásico del LNH o a la infección por Ao; como tampoco si en su mecanismo patogénico, Ao invadió tejido necrótico producido por LNH o si encontró un ambiente propicio a partir de un trauma facial anterior. Como Ao es un microorganismo de crecimiento lento y puede ser colonizante, es necesaria la comunicación entre el equipo de salud para llegar a un diagnóstico temprano y tratamiento adecuado; ya que el subdiagnóstico contribuye a la morbilidad por su comportamiento indolente. Ante la presencia de actinomicosis se debe investigar una patología neoplásica asociada.

VI 071

1012 - CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE METALO BETA LACTAMASAS EN UN HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS

PELOC, Carolina Emilce [1] | MOLINARI, Cesar[1] | CORIGLIANO, Cecilia[1] | COHEN, Emilia[1] | CARULLA, Mariana[1] | MONTAÑA, Sabrina[2] | RAMIREZ, Maria Soledad[3] | SLY, Gabriela[1] | ALMUZARA, Marisa[1]

HOSPITAL INTERZONAL GENERAL DE AGUDOS "EVA PERÓN". [1]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. FACULTAD DE MEDICINA. IMPAM [2]; UNIVERSIDAD DE FULLERTON [3]

Introducción y Objetivos: Introducción: Las metalo-ß-lactamasas (MBL) son enzimas que inactivan a los antibióticos betalactámicos a excepción de aztreonam. Los genes que codifican estas MBL se alojan en plásmidos lo que favorece su transferencia entre especies y aumenta su diseminación a nivel hospitalario. La caracterización de las mismas permite tomar medidas tendientes a prevenir su diseminación. Objetivo: Describir las características clínicas y microbiológicas de 9 aislados de Enterobacterias productoras de MBL

(EMBL) a partir de especímenes clínicos de pacientes atendidos en un Hospital del Conurbano Bonaerense en el periodo marzo 2018- marzo 2019.

Materiales y Métodos: Se evaluaron las historias clínicas a fin de recabar información relacionada a edad, sexo, diagnostico al ingreso, enfermedad de base, procedimientos invasivos (catéteres, cirugías, ARM), ingreso a UCI, tiempo de internación, tratamiento antibiótico previo y posterior al aislamiento. Los aislados fueron caracterizados por el sistema automatizado Vitek2C (identificación y sensibilidad antibiótica). Las cepas fueron estudiadas por método de blue carba; Hodge Tritón; y KIT KPC-MBL Rosco. Se buscaron los genes implicados en la resistencia a carbapenemes mediante amplificación por PCR para genes *bla*IMP, *bla*VIM, *bla*NDM y *bla*KPC.

Resultados: 9 pacientes, todos de sexo masculino; mediana 56 años (rango 1-78 años), 8 internados y 1 con ingresos recurrentes al hospital por hemodiálisis trisemanal. El tiempo promedio de internación hasta el cultivo positivo para EMBL fue de 20 días. Todos ellos tuvieron algún procedimiento invasivo y 5 recibieron antibióticos de amplio espectro antes del rescate de EMBL. El 60% de los pacientes tuvo un ingreso a la UCI. Tres presentaron bacteriemia por EMBL. El tratamiento instaurado siempre fue la combinación de antibióticos de acuerdo a la sensibilidad antibiótica informada. Dos pacientes fallecieron. Entre las EMBL hubieron 3 *Providencia stuartii*, 1 *Providencia rettgeri*, 3 *Proteus mirabilis* y 2 *Klebsiella pneumoniae*. Todos mostraron sinergia entre meropenem y EDTA sugiriendo la presencia de una MBL. Dieron el test de Hodge Tritón positivo confirmando un mecanismo enzimático. El test blue carba detectó el 60% de las MBL. Todos los aislados presentaron multirresistencia antibiótica o resistencia extrema conservando sensibilidad a fosfomicina y en el caso de *K. pneumoniae*, a colistina. También se observó un 60% de sensibilidad a amikacina. La caracterización genotípica de la resistencia a carbapenemes resultó positiva para *bla*NDM-1 en todos los casos, mientras que 4 de ellos fueron además positivos para *bla*VIM-2.

Conclusiones: El hallazgo de EMBL en muestras clínicas en pacientes que presentan factores de riesgo asociados al cuidado de la salud alerta sobre la importancia de tomar medidas tendientes a disminuirlos y destaca la importancia de caracterizar genéticamente los aislamientos a fin de asegurar una mejor vigilancia epidemiológica y optimizar la terapia antibiótica empírica.

VI 072

1018 - *E. COLI* O157 ASOCIADA A SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO (SUH) EN UN HOSPITAL PEDIÁTRICO DE REFERENCIA DEL NORTE DE ARGENTINA. DESCRIPCIÓN DEL PRIMER CASO DETECTADO EN EL LABORATORIO

MARTINEZ, Mónica[1] | LEGUIZAMON, Lorena[2] | LOPEZ, Oscar[2] | MORALES, Sandra[2] | GIMENEZ, Adriana[2] | GRENON, Sandra[1] | **VON SPECHT, Martha Helena** [1]

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICA Y NATURALES/UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES [1]; HOSPITAL PROVINCIAL DE PEDIATRÍA DE MISIONES "DR. FERNANDO BARREYRO" [2]

Introducción: [Escherichia coli] productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno transmitido por alimentos que puede causar diarrea acuosa, diarrea sanguinolenta y síndrome urémico hemolítico (SUH) principalmente en menores de 5 años de edad. Recientemente el laboratorio de bacteriología implementó una PCR múltiple para la detección de este patógeno acorde al protocolo propuesto por el Laboratorio de Referencia Nacional (INE-ANLIS Dr Carlos Malbrán, Rivas y col.) que se sumó a los procedimientos fenotípicos convencionales. Se identificaron a la fecha 3 aislamientos (rfbO157/stx1/stx2) positivos (tres niñas de 7, 4 y 2 años de edad, hospitalizadas). Presentamos la descripción del primero de estos casos de SUH típico.

Caso Clínico: Paciente femenino de 2 años de edad, del interior de Misiones que en noviembre de 2016 comienza con fiebre, vómitos y deposiciones diarreicas oscuras; medicada sintomáticamente en lugar de origen. Por persistir los síntomas consulta en el Hospital Provincial de Pediatría de Posadas "Dr. Fernando Barreyro". No presenta antecedentes perinatológicos, madurativos o patológicos a destacar. En la consulta se observa una niña pálida, amarillenta, con estado de conciencia alternante sin signos meníngeos, algunas petequias en la cara y hematomas en miembros inferiores. Febril, taquicárdica, taquipneica. Con un laboratorio de guardia que presentaba leucocitosis con neutrofilia, (15100/mm3: 71% neutrófilos, 20% linfocitos) plaquetopenia (89.000/mm3). Uremia y creatininemia elevadas, enzimas hepáticas muy aumentadas; hiperbilirrubinemia a predominio indirecta. Ionograma: Na= 128 mEq/L, K= 4,5 mEq/L. Estado acido base con acidosis metabólica. Proteinuria y hematuria. Se interna en área crítica con diagnóstico presuntivo de glomerulonefritis rápidamente progresiva, sepsis y SUH. Se toman muestras para Bacteriología: hemocultivo, coprocultivo, urocultivo. Hematología informa observación de esquitocitos y crenocitos. Evoluciona a insuficiencia renal aguda con hipertensión arterial, tratada con diálisis peritoneal durante 10 días. Al quinto día de internación se confirma el diagnóstico de SUH típico por identificación desde coprocultivo de [E. coli] O157. La paciente presenta buena evolución clínica, recupera la función renal y es dada de alta luego de 28 días de internación, normotensa. No registra antecedentes de la forma de contagio.

Conclusiones: La gravedad de los cuadros clínicos a los cuales se la relaciona amerita la vigilancia continua de esta bacteria a lo que contribuye la implementación de nuevas técnicas diagnósticas, antes no utilizadas en la Provincia.

VI 073

1019 - IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *UREAPLASMA PARVUM* Y *UREAPLASMA UREALYTICUM* DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS EN ARGENTINA ENTRE 2003 Y 2018

BALDONI, Gabriela | MENDEZ CABALLERO, Erika | BARDOSSY, Eugenia | DÍAZ, Mónica | VACCHINO, Martín | GALARZA, Patricia

ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: *Ureaplasma spp* (Usp) son una reconocida causa de uretritis no gonocóccica y se han relacionado con complicaciones del embarazo. Pueden ser adquiridos por neonatos en el útero, o por transmisión vertical durante el nacimiento, llegando a causar neumonía, enfermedad pulmonar crónica y meningitis. Debido a que con frecuencia se los aísla del tracto urogenital de personas sanas, su rol patogénico resulta difícil de probar y solo se lo asocia a sintomatología cuando se lo aísla en alta concentración y en ausencia de otros patógenos estrictos. Desde el año 2001, la especie *Ureaplasma urealyticum* (Uu), fue separada en dos nuevas especies: *U.parvum* (Up) y Uu respectivamente. Según la bibliografía, la mayoría de los ureaplasmas humanos pertenecen a la especie Up, mientras que Uu se encuentra con menor frecuencia. El objetivo de este trabajo fue describir la distribución de frecuencia de las especies Up y Uu aislados de muestras genitales y extragenitales.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio observacional descriptivo retrospectivo. De las 384 muestras derivadas al servicio en el período 2003-2018, 194 resultaron positivas por cultivo o reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para Usp, de las cuales 131 se incluyeron en el estudio. Definiciones: Muestra Negativa Usp ¨N¨: PCR y/o cultivo negativo. Las muestras genitales positivas (MGp), se discriminaron en tres grupos: ¨G1¨: título en cultivo mayor o igual a 1/10000. ¨G2¨: título menor o igual a 1/1000. ¨G3¨: título desconocido. Las muestras extragenitales positivas (MEp) se consideraron jerarquizables. Se registraron datos de edad, sexo, tipo de muestra. La identificación de especie se realizó por PCR amplificando la región 5' de los genes de MBA (por sus siglas en inglés, Multiple Banded Antigen). Se consideró positiva para Up o Uu la visualización de una banda de 326/327pb o 476pb, respectivamente y mixtas (Mix) las positivas para ambas especies. Se registraron datos de edad, sexo, tipo de muestra y motivo de consulta. Se realizó el análisis estadístico de los datos.

Resultados: El porcentaje de positividad global fue del 50,5% (194/308). 121 MGp: 75 G1 (Up 84%; Uu 12% y Mix 4%); 27 G2 (Up 77,8% y Uu 22,2%) y 19 G3 (Up 57,9%; Uu 21,1% y Mix 21,1%). La edad media de los pacientes con MG fue de 28,1 ± 11,0 años y el 88,5% fueron mujeres. 8 MGp en hombres con síntomas de uretritis fueron 3 Uu y 5 Up. 9 MEp: 2 de líquido articular (2 Uu), 7 respiratorias de neonatos (4 Up, 2 Uu y 1 Mix).

Conclusiones: En el período 2003-2018 la especie de Usp identificada con mayor frecuencia en aislamientos clínicos de MG fue Up, independientemente de la asociación del aislamiento con la carga bacteriana. Uu se detectó en mucha menor proporción, aunque la misma se incrementa en pacientes masculinos con síntomas de uretritis. En MEp también se observa predominio de Up, en concordancia con la bibliografía. Estos resultados preeliminares evidencian la necesidad de realizar un estudio controlado para estudiar la asociación de las especies de Usp con patología.

VI 074

1020 - BROTE FAMILIAR DE PSITACOSIS EN LA CIUDAD DE LANÚS

ZUAZQUITA, Andrea[1] | BURLANDO, Patricia F[1] | SABLICH, Juan[1] | MADARIAGA, Maria Julia[2] | ORTEGA FLORES, Dan Tania[1] | MARONE, Silvia B[1] | RIMA, Alejjandra[1] | MARTINEZ, Gustavo[3] | VILAR, Gabriela N[4] | LARA, Claudia[4] | DESIMONE, Isabel[1] | **CADARIO, María Estela** [4]

HOSPITAL EVITA DE LANÚS [1]; INSTITUTO DE ZOONOSIS LUIS PASTEUR. DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS. [2]; , MINISTERIO DE SALUD DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES-ZOONOSIS URBANA [3]; INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [4]

Introducción y Objetivos: La psitacosis es una zoonosis de denuncia obligatoria producida por *Chlamydia psittaci*. La via de transmisión más frecuente para el hombre es el contacto con aves y se manifiesta en forma de brote o de casos aislados. El objetivo de este trabajo es describir el estudio de un brote ocurrido por el contacto de miembros de una familia con loros provenientes de venta ilegal.

Materiales y Métodos: Se estudiaron muestras provenientes de tres pacientes pertenecientes a una familia: padre, hijo e hija, que ingresaron al hospital durante el mes de mayo con sospecha de psitacosis. Todos al ingreso presentaron un cuadro de neumonía de la comunidad y tenían como fuente infectante a un loro fallecido. Los responsables de zoonosis organizaron la toma y envío de los órganos de una de las aves para sus estudios al Instituto de Zoonosis Luis Pasteur. En el hospital, se tomaron las muestras humanas adecuadas (respiratorias y par de sueros) para lograr confirmar el resultado. La serología fue realizada en el laboratorio del hospital. Se detectaron anticuerpos por inmunofluorescencia (CHLAMYDIA IFA-Vircell Microbiologists) de

clase IgM (IFI-IgM) en el primer suero e IgG (IFI-IgG) en el par de sueros (con 21 días de diferencia entre ambos). El estudio de las muestras respiratorias (hisopado nasal y faríngeo-HNF) se realizó en el Laboratorio Nacional de Referencia (INEI-ANLIS). Se utilizó una técnica de PCR múltiple anidada (PCR-MA)*16SrRNA*. En la muestra aviar se utilizó una técnica de PCR en tiempo real (RT-PCR) para la familia *Chlamydiaceae*.

Resultados: Por serología se confirmaron 3 (3/3) casos con seroconversión de anticuerpos de clase IgG. Además, en 2 de ellos se detectaron anticuerpos de clase IgM. Se obtuvo un resultado positivo para *Chlamydia psittaci* por PCRMA en la muestra respiratoria de uno de los pacientes (1/3). La muestra del loro fue positiva para la familia *Chlamydiaceae*.

Conclusiones: Con técnicas serológicas y moleculares se pudo confirmar la infección reciente por *Chlamydia psittaci* en la hija. Por serología se pudo además confirmar infección reciente por *Chlamydia* spp., en el hermano. Además se confirmó la infección del ave relacionada por RT-PCR. Destacamos que en el estudio de un brote es fundamental la sospecha de la enfermedad y la toma correcta de muestras a tiempo para detectar la fuente infectante y prevenir la aparición de nuevos casos.

VI 075

1023 - PRIMER CASO DE INFECCIÓN PROTÉSICA CRÓNICA POR *CLOSTRIDIUM SEPTICUM* EN UN ADULTO JOVEN CON OSTEOSARCOMA DE EWING. UTILIDAD DE MALDI-TOF MS PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO

LEGARIA, María Cristina [1] | BARBERIS, Claudia[1] | CAMPORRO, Julieta[2] | TOSELLO, Claudia[2] | FAMIGLIETTI, Angela[1] | STECHER, Daniel[2] | VAY, Carlos[1]

LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA, DTO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA, HOSPITAL DE CLINICAS JSM. FFYB.UBA [1]; UBA. FACULTAD DE MEDICINA. HOSPITAL DE CLÍNICAS JOSÉ DE SAN MARTÍN, DIVISIÓN INFECTOLOGÍA. [2]

Introducción: *Clostridium septicum* es un bacilo gram-positivo (BGP) anaerobio esporulado. Se encuentra en el suelo y en los animales, su participación en la microbiota intestinal es cuestionable. La infección por *C. septicum* (ICS) se presenta principalmente en pacientes con malignidad colónica y hematológica. Puede producir septicemia, gangrena gaseosa espontánea o mionecrosis clostridial, todas con alta mortalidad.

Caso Clínico: Paciente hombre de 21 años con Sarcoma de Ewing (SE) femoral diagnosticado 3 años antes. Vivía en zona rural en contacto con el ganado. Se le realizó resección tumoral y reemplazo total de fémur derecho con artroplastia de cadera y rodilla. Recibió 14 ciclos de quimioterapia y 28 de radioterapia. Un año después presentó recidiva y se le efectuó resección tumoral a nivel trocantéreo. A los cinco meses se presentó con secreción por fístula a nivel de rodilla y región trocantérea de 2 meses de evolución y fiebre en los 3 días previos. Ex. físico: afebril, con fístula con secreción purulenta en rodilla y cadera derecha. Laboratorio: Hto 34%, GB 8800 /mm3, (NEU 84.5%), VSG 39 mm/h y PCR 21,72 mg/dl. Se realizaron Rx de pelvis y RMN con contraste. Se detectó colección a nivel femoral proximal. Se efectuó toilette quirúrgica. Desarrolló [C. septicum en 7/7 y *Staphylococcus aureus* MS en 2/7 muestras. En la coloración de Gram se observaron BGPs que a las 48 h. de incubación en anaerobiosis mostró colonias transparentes que invadían la superficie del agar sangre Brucella. *C. septicum* se identificó por pruebas fenotípicas. La espectrometría de masas (MALDI-TOF-MS, Bruker BioTyper 3.1) lo identificó a partir del caldo tioglicolato a las 24 h de incubación y de las colonias (score>2). Se realizó hemocultivo aerobio-anaerobio, ambos sin desarrollo. Fue sensible a CIM (µg/ml): AMP, AMS, PTZ (<=0,016), CLIN (0,023), FOX (0,032), IMP (0,012) y MTZ (<= 0,084). RIF 45mm. ß lactamasa-. Inició empírico con VAN 1 gr/12 h e IMP 500 mg/ 6 h por 8 días. Se adecuó a CEFALO 2 gr/8 h y CLIN 600 mg/6 h EV por 6 días y luego a AMC 1 gr/ 12 h y RIF 600 mg/día VO. La remoción de la prótesis no fue factible debido a la condición del paciente. A las 4 semanas presentó fístula con secreción purulenta, por lo cual se realizó nueva toilette y cultivo.Todos se encuentran sin desarrollo hasta la fecha, por lo cual continuó con igual TTM.

Conclusiones: El SE es un tumor de hueso (primario) y de tejidos blandos altamente agresivo que afecta a niños y adultos jóvenes. Afecta más frecuentemente a los huesos largos de los miembros inferiores, en la segunda década de edad y en el sexo masculino. Al parecer su condición y el contacto con animales favoreció el ingreso y la proliferación de *C. septicum*. Es probable que el medio hipóxico y acidótico originado por la glucólisis anaerobia del tumor hayan facilitado la germinación de los esporos lo que condujo a la infección activa. Para nuestro conocimiento este constituye el primer reporte de infección protésica por *C. septicum* en un paciente con SE. El TTM quirúrgico y ATB son los pilares para el control de la infección. La espectrometría de masas (MALDI-TOF) resultó de gran utilidad para identificar rápidamente el microorganismo, incluso a las 24 h. de incubación del caldo tioglicolato.

VI 076

1024 - SCREENING Y DESCOLONIZACIÓN DURANTE DOS BROTES DE KPC

ALTAMIRANO, Agustina | PESSI, Carla | RUCCI, Victoria | FREIJE, Julieta | BORDA, Noemi | DE LA RIESTRA, Raquel | BEVACUA, Dario | ZACCARDI, Julia | BERMEJO, Joaquin

HOSPITAL ESPAÑOL ROSARIO

Introducción y Objetivos: Las infecciones debidas a KPC son un problema creciente. Las estrategias de control y prevención pueden arrojar resultados diferentes en función de la epidemiología propia de cada hospital. Analizamos el impacto de la búsqueda activa de colonizados y su descolonización en situación de brote epidémico.

Materiales y Métodos: Un total de 129 paciente fueron estudiados en dos brotes epidémicos de KPC en los años 2012 (n=43) y 2017 (n=86) en la misma unidad de cuidados críticos (UCC) de un hospital de agudos. La búsqueda de colonización se realizó mediante hisopado rectal según protocolo. El método microbiológico para la detección de enterobacterias productoras de carbapenemasa se basó en el uso de medios cromogénicos (CHROMagar® KPC supplement). Una vez detectado el crecimiento en el medio luego de 48 hs de incubacion, se confimó identificación bacteriana y antibiograma en sistema Vitek-2 compact de Biomerieux. La determinación de la sensibilidad a colistín se realizó por método de predifusión con Tabletas Rosco-Neosensitabs®. A los pacientes colonizados se les administró un tratamiento antibiótico para descolonización (TAD) que fue diferente en cada brote (colistin [COL] en 2012 y colistin+neomicina [COL+NEO] en 2017). Los pacientes fueron seguidos hasta el alta, muerte o traslado. Se consideró la existencia de infección por KPC cuando ésta fue aislada de muestra clínica en presencia de síntomas compatibles. Se consideraron los siguientes resultados respecto del TAD: "éxito" (EX), cuando en el hisopado de control tras el TAD no se obtuvo desarrollo de KPC; "falla" (FA), cuando se mantuvo el desarrollo; "recolonización" (RE), cuando tras un hisopado negativo posteriormente reaparece la KPC y "sostenida" (ST) cuando tras conseguir el EX no ocurrió RE.

Resultados: La edad promedio de los pacientes fue 65.3 años (DS 15.3) de los que 62% fueron varones. Procedían de su hogar 81.4% y 18.6% de otra institución. Se detectó colonización en 44.2% (57/129) pacientes. El tiempo promedio entre el ingreso a UCC y la detección de la colonización fue de 11.3 días (DS 9.9). Recibieron antibióticos previos 86%; 80.5% (58/72) de los no colonizados y 93% (53/57) de los colonizados (p=0.03). Se administró TAD a 78.9% (45/57). Completaron seguimiento el 68.9% (31/45), cuyos resultados fueron (Total/Brote 2012/Brote 2017): FA, 32.3%/63.6%/15%; EX, 67.7%/36.3%/85%; RE, 28.6%/9.1/%/25% y ST 48.4%/27.3%/60%. Sufrieron una infección por KPC 22.8% (13/57) de los colonizados y 4.1% (3/72) de los no colonizados (p=0.001). El tiempo promedio entre el ingreso a UCC y la detección de la colonización fue de 19.3 días (DS 18.5). Sufrieron infección por KPC 18.7% de los EX, 22.2% de los FA*, 60% de los RE y ninguno de los ST* (*p=0.03). La mortalidad en los colonizados fue 47.4%; 53.8% cuando se infectaron y 45.4% cuando no (p=ns). La mortalidad entre los colonizados con FA fue 56.2% y con ST 33.3% (p=ns).

Conclusiones: 1, el uso de antibióticos previos favorece la colonización; 2, la colonización es un factor de riesgo para infección por KPC; 3, el TAD previene la infección en caso de conseguir la ST; 4, COL+NEO parece haber sido más efectivo que COL como esquema de TAD.

CAM - Bioseguridad y biocustodia

VI 077

0364 - BIOFILM EN PRODUCTOS MÉDICOS DE USO EN ODONTOLOGÍA: IMPORTANCIA DEL LAVADO DEL INSTRUMENTAL

BAREMBAUM, Silvina Ruth [1] | SCATENA, Maria Gabriela[2] | AZCURRA, Ana Isabel[3] | SOCOLOVSKY, Javier Andrés[4]

CÁTEDRA "B" INTRODUCCIÓN A LA FÍSICA Y QUÍMICA BIOLÓGICAS. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UNC [1]; CÁTEDRA "B" DE QUÍMICA BIOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [2]; CÁTEDRA "B" DE QUÍMICA BIOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [3]; CÁTEDRA "B" INTRODUCCIÓN A LA FÍSICA Y QUÍMICA BIOLÓGICAS. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UNC [4]

Introducción y Objetivos: Introducción. Los microorganismos (MO) tienen la capacidad de establecerse bajo la forma de biofilm sobre los productos médico-odontológicos, lo que hace que sean propensos a la contaminación. Aplicar un adecuado protocolo de esterilización para su eliminación es fundamental. La etapa de lavado es de suma importancia para disminuir la carga microbiana del instrumental y así garantizar la efectividad del agente esterilizante. El uso de detergentes enzimáticos (DE) en dicha etapa favorecería la disminución de la carga microbiana. Objetivos: -Evaluar la capacidad de formación de biofilm de MO sobre el instrumental de uso en odontología y la acción limpiadora del detergente enzimático sobre el instrumental.

Materiales y Métodos: Materiales y Métodos. Para el desarrollo del biofilm sobre instrumental, limas endodónticas y pinzas de exodoncia estériles fueron colocadas en tubos con suspensiones (1,0 de la escala de Mc Farland en RPMI 1640) de: *Escherichia coli E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus S. aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans C. albicans* ATCC 5314 e incubadas 24 hs a 37 °C. El instrumental se colocó en

solución de detergente enzimático (DE) (Aniosyme Synergy -Anios, Argentina, 5 mL/L 5 min). Se sumergieron las pinzas y limas en caldo tioglicolato con indicador (37 °C, 48 h). Las muestras que mostraron desarrollo fueron sembradas por agotamiento de estrías (dil. 1:10) en los medios de cultivos específicos (agar Levine EMB, Chapman y agar Sabouraud glucosado). El mismo procedimiento para el instrumental sin la etapa de lavado con DE se utilizó como control positivo. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Resultados: Resultados. Las muestras recolectadas del instrumental sin lavado con DE mostraron desarrollo tanto en el caldo de tioglicolato como en los medios específicos (>$1x10^7$ UFC/ml, excepto *S. aureus* con $5x10^6$ UFC/mL). Luego del lavado con DE, en las limas se observó desarrollo de los tres MO ($1x10^6$ UFC/mL) y en las pinzas sólo desarrolló *E. coli* ($2x10^5$ UFC/ml).

Conclusiones: Conclusiones. Los instrumentales odontológicos que presentan rugosidades son superficies propicias para el desarrollo del biofilm, por lo cual la etapa de lavado es crítica. A pesar de la disminución de la carga microbiana con el empleo de DE, los resultados muestran la resistencia de *E. coli* a estos detergentes. La prolongación de los tiempos de exposición al DE podría conducir a una mayor eliminación de MO resistentes.

CAM - Gestión de Calidad

VI 078

0349 - EXPERIENCIA DE ACREDITACIÓN BAJO LA NORMA ISO 17025 EN EL DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS (INEI) ANLIS "DR. C. G.MALBRÁN"

PENCHANSKY, Veronica | FREIRE, María Cecilia | STUPKA, Juan | CISTERNA, Daniel Marcelo | GOMES, Karina Alejandra | BONAVENTURA, Romina | RIVERO, Karina Andrea | MARIOTTI, Yamila Ailén | VLADIMIRSKY, Sara | VILLAREAL, Mabel | TOUS, Mónica | MOLINA, Viviana

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: La implementación de Normas internacionales ISO (International Standarization Organization) para la certificación y acreditación brindan prestigio y confianza a las organizaciones e implican su compromiso con la mejora continua. La Norma ISO 9001 se orienta a los requisitos de Sistemas de Gestión de Calidad (SGC) y aplica a todas las organizaciones, siendo la misma certificable. En cambio, la Norma ISO 17025 se aplica de forma exclusiva a Laboratorios de ensayo y calibración y es una norma acreditable dado que, contiene los requisitos necesarios para que los Laboratorios demuestren la competencia técnica que les permita brindar resultados exactos y oportunos. Objetivo: transmitir a los Laboratorios de Salud de Instituciones públicas y privadas nuestra experiencia en la implementación de una norma de competencia técnica hasta obtener la acreditación de dos ensayos en el Departamento de Virología perteneciente al INEI-ANLIS"C.G. Malbrán".

Materiales y Métodos: Las etapas implementadas en el proceso de acreditación incluyeron: 1. Recopilación de información sobre las actividades de los Laboratorios 2. Definición del Alcance de la Acreditación 3. Redacción de manuales, procedimientos e instructivos 4. Capacitaciones del Personal 5. Validaciones de las técnicas y análisis estadísticos de los resultados 6. Calibración de los equipos de medición y control 7. Aseguramiento de la calidad de los resultados de los ensayos, a través de controles de calidad internos, cartas de control y participación en programas interlaboratorios 8. Registros de las actividades 9. Detección de desvíos o no conformidades 10. Implementación de Acciones Correctivas y de Mejora 11. Definición de objetivos e indicadores 12. Asignación de recursos 13. Auditorías Internas 14. Revisión por la Dirección 15. Solicitud de Acreditación al OAA 16. Otorgamiento de la Acreditación por OAA de la Norma ISO 17025:2005

Resultados: En el mes de febrero de 2018, el Organismo Argentino de Acreditación (OAA), ente acreditador reconocido por ILAC en nuestro país, otorgó al Departamento de Virología la acreditación para los ensayos: "Técnica de PCR en tiempo real para la cuantificación de Virus BK en suero/plasma y orina", realizada en el Servicio de Neurovirosis; y "Técnica de RT-PCR en tiempo real para la detección de Norovirus GII en materia fecal", realizada en el Laboratorio de Gastroenteritis Virales. En marzo de 2019, luego de recibir la primera visita de mantenimiento del ente acreditador, el OAA verificó la continuidad del SGC implementado acorde a la norma de referencia y otorgó el mantenimiento de acreditación. Estos procesos se pudieron llevar a cabo gracias al compromiso permanente de la Dirección del INEI. Actualmente, se está trabajando en la transición a la nueva versión de la Norma ISO 17025, vigente desde el año 2017.

Conclusiones: Es posible implementar Sistemas de Gestión de Calidad en laboratorios de Instituciones públicas orientados a demostrar la competencia técnica requerida para afianzar la confiabilidad de los resultados brindados.

VI 079

0437 - ANÁLISIS DE INTERVENCIONES FARMACÉUTICAS PARA EL USO ADECUADO DE ANTIMICROBIANOS EN LA PROFILAXIS QUIRÚRGICA

CEBALLOS, Silvana A[1] | BUSTOS FIERRO, Carolina[2] | PARAJE, María Gabriela[3] | **PAEZ, Paulina** [1]

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FAMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA, FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, FARMACIA CENTRAL [2]; CAT. MICROBIOLOGÍA, FCEFYN-UNC/IMBIV-CONICET [3]

Introducción y Objetivos: El uso de antimicrobianos para profilaxis quirúrgica es una de las prácticas en la que se comete mayor número de errores. Esto implica no solo el gasto de recursos económicos innecesarios, sino también el creciente aumento de resistencias bacterianas, aparición de infecciones secundarias, reacciones adversas e interacciones. Si bien existen guías internacionales y locales para el correcto uso de antimicrobianos para evitar las infecciones en el sitio quirúrgico, se puede observar un déficit en el cumplimiento de las normas. Por este motivo, se realizó un estudio en el Hospital Nacional de Clínicas, situado en la ciudad de Córdoba, para evaluar la situación a nivel local. El objetivo fue analizar las indicaciones médicas de antimicrobianos para el uso profiláctico en cirugías y realizar la Intervención Farmacéutica (IF) cuando la validación de las prescripciones arroje una desviación de lo indicado por el protocolo "Uso de Antibióticos para Profilaxis en Cirugía" perteneciente a dicho hospital escuela.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio prospectivo, observacional con intervención de las indicaciones de antimicrobianos para la profilaxis quirúrgica en dos períodos: abril a junio y septiembre a noviembre. Con el listado de pacientes que iban a ser sometidos a cirugía, que se obtenía del Área de Quirófano Centralizada, se analizaron las indicaciones de antimicrobianos. Para ello se realizó el registro de los pacientes que iban a ser sometidos a algún procedimiento quirúrgico, diagnóstico y tipo de cirugía, médico responsable, antimicrobiano indicado, dosis, horario de la primera dosis, intervalo y duración. Se cotejó esta información con lo indicado en el protocolo antes mencionado. En los casos en los que se encontró una desviación del protocolo, y revisando la historia clínica del paciente para ver si existía alguna justificación para el cambio, se realizó la intervención farmacéutica/médico infectólogo con el médico prescriptor. Posteriormente se registró si la intervención fue aceptada o no.

Resultados: De las 235 cirugías analizadas en el primer período, se requirió intervención en el 43%, siendo las causas de las mismas: prolongación en el tiempo de profilaxis; indicación de antimicrobiano no disponible en el hospital; esquema incorrecto; intervalo de dosis incorrecto; aplicación de antibiótico sin ir paciente a cirugía. En el segundo período, de las 226 cirugías observadas, se intervino en el 34% debido a las mismas causas que en el primero sumado a dosis única en quirófano; dosis inicial incorrecta y horario de primera dosis. Además de este análisis general, se realizó un análisis por servicio: Ginecología, Cirugías generales, Traumatología, Urología y Neurología.

Conclusiones: Mediante el análisis de los datos obtenidos, se puede concluir que luego de las IF realizadas en el primer período, las mismas se redujeron de 43% a 34% observándose una notoria reducción en el tiempo de profilaxis y mayor adherencia al protocolo.

VI 080

0659 - GESTIÓN DE RIESGOS Y OPORTUNIDADES EN LA PRODUCCIÓN DE CULTIVOS MICROBIANOS DE REFERENCIA

BUENO, Nadia Soledad | REFOJO, Nicolás | MAZZA, Mariana | TAVERNA, Constanza Giselle | FERNÁNDEZ, Julián | RIVAS, María Cristina | VILLARREAL, Mabel | DAVEL, Graciela Odelsia

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Introducción y Objetivos: El Departamento Micología del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas produce cultivos microbianos de referencia (CMR) de hongos miceliales y levaduras. Con el objetivo de demostrar su competencia como productor de CMR, se implementó un sistema de gestión de calidad según la norma ISO 17034:2016 "Requisitos generales para productores de materiales de referencia". Uno de los requisitos más relevantes de la versión 2016 es la gestión de riesgos y oportunidades para detectar acciones preventivas y de mejora. El análisis de modo de falla y sus efectos (AMFE) es una herramienta ampliamente utilizada en la industria para analizar los procesos, identificar fallas potenciales y evaluar el riesgo asociado. El objetivo de este trabajo es realizar una evaluación sistemática de los riesgos de la producción de CMR, definir acciones preventivas y de mejora y realizar su seguimiento, utilizando herramientas de calidad apropiadas para tal fin.

Materiales y Métodos: Se analizó el proceso empleando el AMFE. Se construyeron tablas para estimar la severidad y ocurrencia de las fallas y calcular el índice de riesgo (IR) asociado. Un valor de IR mayor a 5 fue calificado como inaceptable.

Resultados: Se analizaron los pasos del proceso de producción y se detectaron 23 fallas posibles, de las cuales 4 tenían un IR mayor a 5. Se definieron 4 acciones para reducir el riesgo y se establecieron plazos para su

implementación, seguimiento y evaluación de la efectividad. Luego de 6 meses fue posible implementar 3 de las 4 acciones planificadas. Se tomó una nueva acción para disminuir el riesgo remanente. Se detectaron 2 problemas potenciales adicionales, uno de las cuales se determinó inaceptable, por lo que se generó una nueva acción. Dieciocho meses después de la primera evaluación se revisó nuevamente la frecuencia de las fallas previamente detectadas y todas mostraron un IR aceptable, habiendo disminuido el IR de 5 fallas. Se detectaron 11 fallas adicionales posibles, siendo 1 de ellas inaceptable por lo que se generó una acción para disminuir el riesgo asociado.

Conclusiones: La implementación continua de la gestión de riesgos nos permitió detectar problemas potenciales en el proceso de producción, cuantificar su riesgo asociado y definir acciones. Las herramientas como el AMFE, si bien poseen cierta dificultad para determinar los grados de severidad y probabilidad de ocurrencia de las fallas, permiten actuar de manera proactiva, antes de que se produzca el daño. Por otra parte, promueven la recopilación de datos y el análisis retrospectivo de los procesos para estimar la probabilidad de eventos no conformes. Por último, se destaca la importancia de verificar la efectividad de las acciones tomadas para implementar acciones adicionales cuando sea necesario.

CAM – Micobacterias

VI 081

0211 - LA ESTABILIZACIÓN DE HIF-1A EN MACRÓFAGOS HUMANOS TRATADOS CON EL LÍQUIDO PLEURAL TUBERCULOSO PROMUEVE EL CONTROL DE LA INFECCIÓN POR *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

MARÍN FRANCO, José Luis [1] | GENOULA, Melanie[1] | MAIO, Mariano[1] | DOLOTOWICZ, Belén[1] | MORAÑA, Eduardo José[2] | PALMERO, Domingo[2] | SASIAIN, María Del Carmen[1] | BALBOA, Luciana[1]

INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL CONICET - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA [1]; HOSPITAL MUÑIZ E INSTITUTO VACCAREZZA, FACULTAD DE MEDICINA, UBA [2]

Introducción y Objetivos: La cronicidad de la tuberculosis (TB), causada por *M. tuberculosis*, conlleva cambios metabólicos tanto en el hospedero como en el patógeno. Siendo que las rutas metabólicas regulan la capacidad efectora de los macrófagos, éstas pueden ser blancos de estrategias de evasión empleadas por los patógenos. La activación de los macrófagos hacia el programa proinflamatorio y microbicida (perfil M1) está acompañada por un incremento en la glucólisis aeróbica en detrimento de la fosforilación oxidativa, lo cual es mediado por el factor HIF-1a. En este trabajo nos propusimos evaluar el impacto del microambiente generado durante TB sobre las vías metabólicas de los macrófagos M1 y sobre su actividad microbicida.

Materiales y Métodos: Macrófagos diferenciados a partir de monocitos humanos, fueron activados con IFNg/LPS (M1), y tratados o no con la fracción acelular de derrames pleurales tuberculosos (DP-TB), con el fin de modular el microambiente infeccioso local. Los DP-TB fueron colectados por médicos del Htal Muñiz mediante toracocentesis terapéutica. La producción de lactato se determinó mediante ensayos enzimáticos. Se emplearon DMOG y cloruro de cobalto como estabilizadores de HIF-1a. La expresión de HIF-1a, de marcadores de activación M1 y de especies reactivas del oxígeno mitocondriales se determinó mediante citometría de flujo. La respiración mitocondrial se evaluó con un microanalizador de flujo extracelular. La concentración de IL-1ß se determinó mediante ELISA. La carga bacilar se estimó mediante la estimación del área ocupada por *M. tuberculosis* en microfotografías de macrófagos infectados obtenidas por microscopía confocal. Las comparaciones se realizaron utilizando la prueba de Friedman, seguido de las comparaciones de Dunn. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como significativo.

Resultados: La activación de los macrófagos con IFNg/LPS (M1) indujo el aumento de la expresión de CD80, CD86, HLA-DR, PD-L1 y HIF-1a y la liberación de lactato (producto final de la glucólisis). Si bien el tratamiento con el DP-TB no alteró la adquisición del fenotipo M1 en cuanto a la expresión de marcadores de superficie, inhibió la producción de lactato y el incremento de HIF-1a. En forma paralela, la respiración mitocondrial se encontró aumentada en los macrófagos M1 tratados con el DP-TB. En línea con estos resultados, los niveles de HIF-1a se redujeron en los macrófagos M1 tratados con el DP-TB, así como ciertos parámetros proinflamatorios como la producción mitocondrial de especies reactivas del oxígeno y de IL-1ß, lo cual fue acompañado por un incremento en la carga bacilar. De forma interesante, la adición de estabilizadores de HIF-1a fue capaz de revertir los parámetros alterados en los macrófagos M1 tratados con DP-TB.

Conclusiones: Demostramos que el DP-TB altera las vías metabólicas de los macrófagos M1 mediante la inhibición de HIF-1a, perjudicando el control de la infección por *M. tuberculosis*.

VI 082

0822 - EVALUACIÓN DE LAS DIFERENCIAS GENÓMICAS ASOCIADAS CON VIRULENCIA DE AISLAMIENTOS LOCALES DE *MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS*.

BERNÁ, Luisa[1] | COLOMBATTI, María Alejandra[2] | CUERDA, María Ximena[2] | GRAÑA, Martín[1] | ROMANO, Maria Isabel[2] | **SANTANGELO, María de La Paz** [2]

INSTITUTO PÄSTEUR [1]; IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [2]

Introducción y Objetivos: *Mycobacterium. avium subsp. paratuberculosis* (Map), es el agente causal de la Paratuberculosis (PTB), una enfermedad infecciosa caracterizada por una enteritis granulomatosa crónica que resulta en un deterioro progresivo del animal enfermo causando diarreas severas, pérdida de peso y en algunos casos, la muerte. Afecta principalmente al ganado bovino, ovino y caprino, siendo también susceptibles otros rumiantes y la fauna salvaje, lo que dificulta el control. Con el objetivo de identificar factores involucrados en la interacción hospedero-patógeno, nos propusimos evaluar las diferencias genómicas de cepas locales de Map con diferente grado de virulencia en modelos experimentales. Este conocimiento nos permitirá la identificación y diseño de nuevos agentes inmunoterapéuticos e inmunoprofilácticos de potencial importancia para el control de la PTB.

Materiales y Métodos: En base a resultados previos de nuestro grupo se seleccionaron 3 cepas con diferente grado de virulencia para la secuenciación de sus genomas: dos cepas de alta virulencia en macrófagos bovinos y en modelos animales (una de ellas está siendo evaluada por nuestro grupo como cepa vacunal inactivada) y la tercer cepa seleccionada presentó baja virulencia. La determinación de la secuencia completa del genoma de estas cepas, permitirá determinar la variación entre las mismas, la cual puede ser asociada a los fenotipos observados. Esta información puede ser relevante para comprender los mecanismos que determinan la virulencia o la atenuación en distintos aislamientos locales de Map.

Resultados: Posteriormente se buscaron cambios a nivel nucleotídico (SNPs e Indels) en comparación con la cepa de referencia K10. Se obtuvieron un total de 380 SNPs/Indels en las tres cepas. Al considerarse sólo las variantes encontradas en dos de las tres cepas se obtuvieron un total de 16 genes con variantes. Algunas de las mutaciones encontradas en estos genes generan cambios aminoacídicos importantes, cambios en el marco abierto de lectura o disrupción de la proteína (codon stop prematuro). Actualmente se está evaluando si estos cambios a nivel aminoacídico, podría tener relevancia en la función de las proteínas que codifican, y si están implicadas en la virulencia del bacilo.

Conclusiones: Este conocimiento nos permitirá la identificación y diseño de nuevos agentes inmunoterapéuticos e inmunoprofilácticos de potencial importancia para el control de la PTB.

VI 083

0600 - IDENTIFICACIÓN DIRECTA EN ESPUTO DE DOS CEPAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MULTIRRESISTENTE EXITOSAS EN ARGENTINA

MONTESERIN, Johana [1] | PEREZ-LAGO, Laura[2] | MATTEO, Mario[3] | FAJARDO, Sandra[4] | RITA, Armitano[5] | WAINMAYER, Ingrid[6] | YOKOBORI, Noemi[1] | PAUL, Roxana[6] | SIMBOLI, Norberto[6] | LOPEZ, Beatriz[6] | GARCÍA DE VIEDMA, Dario[2] | RITTACO, Viviana[1]

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN"/CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA GREGORIO MARAÑÓN/CIBER ENFERMEDADES RESPIRATORIAS [2]; LABORATORIO CENTRÁNGOLO, INSTITUTO VACCAREZZA/HOSPITAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS "DR. F.J. MUÑIZ" [3]; CENTRO REGIONAL DE ESTUDIOS BIOQUÍMICOS DE LA TUBERCULOSIS [4]; HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS PARMENIO PIÑERO [5]; INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [6]

Introducción y Objetivos: En Argentina, la tuberculosis multirresistente (TB-MDR) ha sido gobernada durante décadas por dos cepas de brote del linaje euroamericano: la cepa M (sublinaje 4.1) que circula en el área metropolitana de Buenos Aires y la cepa Ra (sublinaje 4.3) que circula en Rosario. Desde su emergencia tienen perfiles de resistencia característicos: M es pre-extremadamente resistente y Ra suele tener resistencia adicional sólo a pirazinamida. Hasta 2009, juntas representaban >=40% de los casos de TB-MDR del país. Para contribuir a su control diseñamos dos PCRs alelo-específica (TRAPs) usando SNPs específicos de cada cepa identificados mediante análisis bioinformático de sus secuencias genómicas completas. En estudios previos validamos las TRAPs con DNAs de genotipo conocido y mediante su aplicación a aislamientos de colección demostramos la reciente declinación de M y la persistencia de Ra en sus respectivos nichos. Presentamos aquí una evaluación preliminar del desempeño de las TRAPs aplicadas directamente a esputos baciloscopia (BK) positiva de pacientes en riesgo de MDR-TB.

Materiales y Métodos: Exploramos la presencia de M en 202 esputos de Buenos Aires (Hospitales Muñiz y Piñero) 2017-2019 y la de Ra en 55 esputos derivados al CREBioT Rosario 2017-2018, todos decontaminados por el método de Petroff modificado. Purificamos el ADN mediante columnas comerciales. Separamos los productos de PCR por electroforesis en gel de agarosa al 2% y clasificamos los patrones de bandas como M o no M y Ra o no Ra.

Resultados: Observamos amplificación en 124 (61.4%) esputos de Buenos Aires (29.4% de los BK 1+ y 59.6% de los BK >=2+); identificamos patrón M en 2 y patrón no M en 120. De los 124 esputos con amplificación detectable; 2 presentaron amplificación inespecífica. Observamos amplificación en 36 (65.5%)

esputos de Rosario (50.0% de los BK 1+ y 71.9% de los BK >=2+); identificamos patrón Ra en 7 y patrón no Ra en 29 de los 36 esputos con amplificación detectable. Si bien la muestra no fue sistemática ni exhaustiva, estos resultados coinciden con nuestras observaciones previas sobre la declinación de M y la persistencia de Ra.

Conclusiones: Esta metodología ad hoc rápida y de bajo costo permitió identificar las dos cepas de TB-MDR predominantes en Argentina directamente a partir de esputo. Aún es necesario optimizar las pruebas para aumentar su sensibilidad analítica en especímenes clínicos. La sencillez de la propuesta la vuelve atractiva, sobre todo en medios epidemiológicos críticos como hospitales de referencia y cárceles donde el riesgo de contraer TB-MDR por estas cepas es mayor. Su aplicación directa a especímenes respiratorios permitiría diagnosticar MDR-TB por cepa epidémica, realizar control de foco e instaurar en forma inmediata un tratamiento empírico racional a la espera de resultados de las pruebas de sensibilidad. Financiación: ERANET-LAC (AC16/00057; ELAC2015/T08-0664). ISCIII (AC16/00057; FIS15/01554; 18/00599). Contrato CP15/00075 a LPL. Agencia Nacional de Promoción científica y Tecnológica PICT-2016-3219.

VI 084

0938 - ESTUDIO DE LA PATOGÉNESIS CAUSADA POR UN AISLAMIENTO LOCAL DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN CERDOS DOMÉSTICOS

CUERDA, Maria Ximena [1] | COLOMBATTI, María Alejandra[1] | MOYANO, Roberto Damian[1] | KISSAM, Gustavo[1] | VAGNONI, Lucas[1] | ROMANO, Maria Isabel[1]| BARANDIARAN, Soledad[2] | SANTANGELO, María de La Paz[1]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS [2]

Introducción y Objetivos: La producción porcina en Argentina enfrenta un escenario de oportunidades y desafíos que tiene como objetivo del sector aumentar el consumo de carne de cerdo y posicionarla como carne sustituta de la carne bovina. Para que estos animales desarrollen su máximo potencial productivo, y para que se incremente su comercialización tanto en el mercado interno como externo, deben tener un óptimo estado sanitario. La tuberculosis (TBC) porcina, es causada por *Mycobacterium bovis* y micobacterias del complejo avium, afecta negativamente la producción y es una zoonosis. La infección por M. bovis en los cerdos puede darse por contacto directo con animales infectados, aunque también se describe como un proceso digestivo causado por el consumo de leche, o subproductos lácteos sin tratar. En este trabajo nos propusimos comprender la patogénesis y la respuesta inmune del hospedador, en cerdos infectados experimentalmente por vía oral, con un aislamiento local de *M. bovis*.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 10 lechones Sus scrofa doméstica, de 2 meses de edad y se inocularon por vía oral, con una dosis de 105UFC de un asilamiento local de *M. bovis*. El ensayo se realizó en boxes de bioseguridad. A distintos tiempos se tomaron muestras de sangre para evaluar respuesta humoral mediante un ELISA. A los 4 meses pos-infección se realizó la eutanasia y necropsia de los animales. Se realizó el score macroscópico y se tomaron muestras de linfonódulos (LN) y órganos, para realizar score microscópico. También se realizó cultivo bacteriano, y se estudió la correlación entre score de lesiones y título de anticuerpos.

Resultados: El análisis de las lesiones mediante score macro y microscópico, indicó una mayor cantidad de lesiones en cabeza, luego en tórax y unos pocos animales presentaron lesiones en abdomen. En cuanto al crecimiento bacteriano, hasta el momento se aisló la bacteria en 6/10 animales. Se obtuvo crecimiento en 5 muestras LN de cabeza y tonsilas. En cuanto a tórax y abdomen, obtuvimos crecimiento en 2/3 muestras de LN mesentéricos y 2/4 LN mediastínicos sembrados. En cuanto a la respuesta inmune humoral, 3/10 animales resultaron positivos a los 2 y 4mpi, con títulos comparables a los valores de OD de los controles positivos.

Conclusiones: Dado que la progresión de la TBC en el animal sigue un curso clínico lento, es de esperar que los cerdos infectados durante el período evaluado (4meses pi) desarrollen principalmente lesiones en la vía de entrada de la infección, como LN mandibulares y retrofaríngeos, tal como se observó en esta experiencia. De la misma manera, la respuesta humoral es lenta y progresiva, lo cual explicaría títulos altos en pocos animales en el tiempo evaluado. Observamos que uno de los animales que presentó lesiones más diseminadas, mostró bajos niveles de anticuerpos, por lo que podría estar inmunodeprimido; mientras que aquellos que fueron positivos mostraron resultados variables en cuanto a score.

VI 085

1025 - DETECCIÓN DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* RESISTENTE A RIFAMPICINA EN MUESTRA DE ORINA

GAUDENZI ACUÑA, Florencia [1] | BERTOLINI, Pamela[1] | VIDAL, Patricia[1] | MARCHETTI, Eliana[2] | CORDOMA, Natalia[2] | ARMITANO, Rita[2]

HOSPITAL CENTRAL DE SAN ISIDRO "MELCHOR ANGEL POSSE" [1]; HOSPITAL GENERAL DE AGUDOS PARMENIO PIÑERO [2]

Introducción: La tuberculosis (TB) es la novena causa de muerte a nivel mundial. Se estima que en 2017 más de 10 millones de personas contrajeron la TB y 1,6 millones murieron por esta enfermedad (0,3 millones de personas con VIH). La tuberculosis multirresistente (TB-MDR) sigue constituyendo una crisis en la salud pública y una amenaza para la seguridad sanitaria. Según la OMS, hubo 558mil nuevos casos de resistencia a la rifampicina, de los cuales el 82% padecían TB-MDR. En la Argentina, durante el año 2017 se notificaron 11.659 casos de TB, incluyendo casos nuevos, recaídas, con antecedente de tratamientos previos y aquellos sin información respecto a tratamientos anteriores, resultando así una tasa de 26,5 casos por 100 mil habitantes. La tuberculosis urogenital es la tercera forma más común de enfermedad extrapulmonar. La presentación clásica en el tracto urogenital a través de la diseminación hematógena puede ocurrir en el momento de la infección pulmonar o en el establecimiento de la reactivación o enfermedad miliar.

Caso Clínico: La muestra en estudio es un aislamiento recuperado de una orina de una paciente ambulatoria de 36 años, VIH positiva, diagnosticada con TB pulmonar en agosto de 2018. Reingresa al Hospital central de San Isidro en marzo de 2019, con síntomas de infección urinaria, manifestando abandono de tratamiento antirretroviral en noviembre de 2018, sin abandono de tratamiento antifímico. Se le solicita urocultivo y hemocultivos; cuyos resultados fueron sedimento inflamatorio, hematuria, cultivo para gérmenes comunes negativo y hemocultivos negativos. Ante la sospecha de TBC urogenital, se solicita examen directo y cultivo para BAAR en muestras seriadas, resultando las baciloscopías BAAR +; por lo cual se procede al cultivo en medio sólido Lownstein- Jensen. Paralelamente se analiza la muestra mediante el método genotípico Xpert MTB-RIFA en equipo GeneXpert del Hospital Piñero. Esta técnica amplifica parcialmente el gen *rpo*B mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real para detectar ADN del Complejo Mycobacterium tuberculosis (CMT). Se detecta la presencia del mismo y la resistencia a Rifampicina, por lo que la paciente permanece internada en aislamiento. Su uso es limitado en el diagnóstico de TB extrapulmonares, ya que la detección del CMT depende de la cantidad de microorganismos presentes en la muestra, es recomendada ante fuerte sospecha de diseminación. Al cabo de un mes, se observa desarrollo de colonias características en el medio de cultivo, por lo cual se decide derivarla al Instituto Malbrán solicitando identificación y perfil de sensibilidad. Se realiza la detección del antígeno MPB64 específico del CMT mediante inmunocromatografía lateral (BD MGIT TBc-ID) y la de la resistencia a Rifampicina e Isoniacida mediante MAS-PCR. Se detecta la presencia de la mutación en posición 531 del gen *rpo* B asociado a la resistencia a Rifampicina; por lo cual se analiza la sensibilidad a drogas de segunda línea, resultando sensible a Fluorquinolonas, Aminoglucosidos y Capreomina.

Conclusiones: En general, la TB urogenital se desarrolla mayormente en pacientes jóvenes coinfectados con VIH que son más propensos a manifestar las formas diseminadas. El diagnóstico se sospecha en pacientes con manifestaciones clínicas y factores epidemiológicos relevantes; como por ejemplo, micción frecuente, hematuria y/o piuria, infección o exposición a TB previa, residencia o viajes a áreas de TB endémicas, respectivamente. En este caso clínico en particular, el abandono del tratamiento antirretroviral y el aumento de la inmunodeficiencia fueron los factores desencadenantes de la resistencia a drogas de primera línea.

CAM - Micología básica

VI 086

0418 - NIVEL DE HIDROFOBICIDAD, ADHERENCIA Y CAPACIDAD DE FORMAR BIOPELÍCULAS DE *MALASSEZIA SYMPODIALIS*, *M. GLOBOSA* Y *M. SLOOFFIAE*

ANGIOLELLA, Letizia [1] | MUSSIN, Javier[2] | GRECO, Rosa[3] | SOSA, Maria de Los Angeles[2] | ROJAS, Florencia[2] | GIUSIANO, Gustavo[2]

DIPARTIMENTO SANITÀ PUBBLICA E MALATTIE INFETTIVE, SAPIENZA UNIVERSITÀ DI ROMA, ITALIA [1]; INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE, CONICET [2]; INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE [3]

Introducción y Objetivos: Algunas especies del género *Malassezia* forman parte de la microbiota habitual de la piel pero, bajo ciertas condiciones, pueden volverse patógenas. Poco es el conocimiento sobre el rol patogénico de estas levaduras lipofílicas y sobre la expresión de sus factores de virulencia. En este estudio evaluamos *in vitro* los niveles de hidrofobicidad, la capacidad de adherencia y la formación de biofilm de 20 aislamientos de *Malassezia* obtenidos de piel sana (PS) y de piel con lesiones (PCL) de pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica o dermatitis atópica.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 13 *M. sympodialis* (8 de PCL y 5 de PS), 4 *M. globosa* (3 de PCL y 1 de PS), 2 *M. slooffiae* aisladas de PCL y la cepa de referencia CBS 9222 *M. globosa*. Se midió la adherencia sobre una superficie plástica de poliestireno y el nivel de hidrofobicidad de la superficie celular mediante el sistema de dos fases. La formación de biopelícula sobre poliestireno se determinó mediante el ensayo de reducción XTT y se confirmó utilizando microscopia electrónica de barrido (MEB). Las pruebas se hicieron por triplicado y se calculó la desviación estándar.

Resultados: Todos los aislamientos fueron hidrofóbicos y adherentes. La hidrofobicidad mostró valores con rango entre 9,8 ± 2,1% y 87,7 ± 15,2%, siendo el 50% de las cepas altamente hidrofóbicas. La adherencia

mostró valores entre 15 ± 2,8 % y 98,7 ± 3,2 %. Los aislamientos de *M. globosa* y *M. slooffiae*mostraron mayor adherencia que los de *M. sympodialis*. La hidrofobicidad es un factor importante para la adherencia, estas características observadas en todas las cepas estudiadas, aunque con diferente capacidad entre ellas, están involucradas en la alta capacidad para formar biopelícula sobre superficies abióticas. El ensayo con XTT, *M. sympodialis* mostró una media de 0,464 ± 0,17, *M. globosa* 0,60 ± 0,05 y *M. slooffiae* 0,161 ± 0,13. La MEB confirmó la formación de la misma con una abundante matriz extracelular después de 48 h de incubación.

Conclusiones: La media de los valores obtenidos para los tres factores de virulencia estudiados mostró valores altos cuando se estudiaron los aislamientos de PS comparando con los de PCL. Estos importantes factores podrían potenciar la capacidad de estas especies para cambiar su estado de comensal a patógeno. En trabajos anteriores demostramos la capacidad de *M. furfur* para formar biofilm. Estos resultados muestran que *M. sympodialis*, *M. globosa* y *M. slooffiae*, también lipodependientes y frecuentemente involucradas en diversos procesos dermatológicos, comparten estos factores de virulencia. La capacidad de formar biopelículas observada está relacionada con la capacidad de colonizar catéteres y en consecuencia producir fungemias.

VI 087

0528 - PATRONES DE USO DE FUENTES DE CARBONO POR *A. FLAVUS, F. VERTICILLIOIDES Y T. FUNICULOSUS*: EFECTO DEL AMBIENTE HERMÉTICO DE CRECIMIENTO

CASTELLARI, Claudia [1] | MARCOS VALLE, Facundo[2] | PACIN, Ana María[3]

UNIDAD INTEGRADA BALCARCE (FCA, UNMDP – EEA BALCARCE, INTA) RUTA 226 KM 73,5 BALCARCE [1]; UNIDAD INTEGRADA BALCARCE (FCA, UNMDP – EEA BALCARCE, INTA) RUTA 226 KM 73,5 BALCARCE [2]; FUNDACIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS TERESA BENEDICTA DE LA CRUZ, LUJÁN [3]

Introducción y Objetivos: La composición de los gases en almacenamiento hermético de granos debe ser considerada un factor clave al evaluar el uso de fuentes de carbono (FC) utilizadas por especies fúngicas que provocan su deterioro. El objetivo del presente trabajo fue establecer, in vitro, patrones de uso de nutrientes en ambientes de crecimiento hermético para *A. flavus*, *F. verticillioides* y *T. funiculosus* aislados de maíz almacenado en silos bolsa ubicados en el sudeste bonaerense, Argentina.

Materiales y Métodos: Se evaluaron 18 aislamientos pertenecientes a las tres especies, seis de cada una de ellas. Éstos fueron inoculados por triplicado en tubos con un medio base mínimo con $NaNO_3$, $MgSO_4.7H_2O$, K_2HPO_4 y KH_2PO_4, al que posteriormente se le adicionaron individualmente diferentes FC: tres aminoácidos, seis carbohidratos y dos ácidos grasos (componentes principales de maíces de producción nacional). Se realizaron dos ensayos, uno en un ambiente sin restricción de O2 y otro en condiciones herméticas utilizando frascos con cuatro concentraciones diferentes de O_2 y CO_2 (M1: 1%-25%; M2: 5%-25%; M3: 5%-15%; M4: 21%-0%). Los frascos se incubaron a 25 °C durante siete días y a partir de las 24 h y cada 48 h los mismos fueron observados visualmente y se registró la presencia de micelio y la esporulación. Las estructuras reproductivas fueron confirmadas a partir de la observación microscópica de alícuotas extraídas de los tubos. El tubo fue considerado positivo cuando se observó la presencia de micelio.

Resultados: *A. flavus*, *F. verticillioides* y *T. funiculosus* utilizaron como FC carbohidratos, aminoácidos y ácidos grasos, en condiciones sin restricción de intercambio gaseoso y en ambientes herméticos; sin embargo, en el ambiente hermético el número de FC utilizadas fue menor e influenciado por los niveles iniciales de O_2 y CO_2. Cuanto menor fue la concentración inicial de O2, menor fue el número de FC utilizadas por las tres especies, aunque con variabilidad intraespecífica. Los hidratos de carbono como amilosa, amilopectina, maltosa y glucosa fueron utilizados como FC por *A. flavus* y *F. verticillioides*, en condiciones herméticas. Estos compuestos fueron reportados como inductores de la síntesis y acumulación de aflatoxinas y fumonisinas en granos almacenados en ambientes sin restricción de O_2; sin embargo, no se halló bibliografía sobre dicha inducción en ambientes herméticos. Las tres especies utilizaron el ácido linoleico en los dos ambientes herméticos. Varios autores observaron que este ácido está presente en cantidades significativamente mayores en granos de maíz de genotipos susceptibles y que correlacionó positivamente con el contenido de fumonisinas en grano.

Conclusiones: Este trabajo aportó información original sobre la necesidad de estudiar el rol de los compuestos químicos como inductores de la síntesis de aflatoxinas y fumonisinas por *A. flavus* y *F. verticillioides* respectivamente, asociadas a granos de maíz almacenados en condiciones herméticas.

VI 088

0531 - EFECTO DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* SOBRE *CANDIDA ALBICANS*

BAREMBAUM, Silvina Ruth [1] | SCATENA, Maria Gabriela[2] | AZCURRA, Ana Isabel[3]

CATEDRA B DE INTRODUCCION A LA FISICA Y QUIMICA BIOLOGICAS FACULTAD DE ODONTOLOGIA UNC [1]; CATEDRA B DE QUIMICA BIOLOGICA FACULTAD DE ODONTOLOGIA UNC [2]; CATEDRA B QUIMICA BIOLOGICA FAULTAD ODONTOLOGIA UNC [3]

Introducción y Objetivos: Introducción: En la candidiasis bucal la especie más frecuente es *Candida albicans* que puede formar *biofilm* e interaccionar con otros microorganismos. Entre ellos se establecen relaciones de antagonismo o sinergia que favorecen su persistencia, modulando sus factores de virulencia. La transición a morfologías más virulentas de *Candida* y la capacidad de formar *biofilm* de la microbiota bucal son consideradas determinantes en la patogénesis, por lo que la administración de un probiótico como *Lactobacillus* podría modificar la virulencia de algunos de estos microorganismos bucales. Objetivo: Evaluar el efecto modulador de *L. acidophilus* (LA) y el sobrenadante de cultivo de LA sobre factores de virulencia de *C.albicans* (CA).

Materiales y Métodos: Materiales y métodos: a- Formación de *biofilm*: Se desarrollaron *biofilm* monoespecie y mixto sobre policubetas de poliestireno estériles tratadas con suero bovino fetal a partir de suspensiones (150 µl) de la cepa de colección CA SC5314 (1,0 escala de Mc Farland) en presencia o en ausencia de una suspensión de LA (ATCC 4356) o el filtrado de sobrenadante de cultivo (al 15% v/v; filtro de nylon 0,22 µm). Se comparó la eficacia del RPMI 1640 y del caldo Sabouraud glucosado (CSG) en la etapa de desarrollo del *biofilm* (24 y 48 h a 37 °C en microaerofilia). Para cuantificar la formación de biofilm se empleó el método de reducción de XTT. b- Filamentación de *C.albicans*: Se incubaron 100 µ;l de suspensión de CA con igual volumen de medio inductor (SFB) en presencia o en ausencia de una suspensión de LA, de sobrenadante de cultivo (37ºC durante 2,5 h). Se contaron 300 células a X400 y se calculó la proporción: tubos germinativos/levaduras (TG/L). Los experimentos se realizaron por triplicado. Los datos fueron analizados mediante el test de t, previa comprobación de la distribución normal de los mismos (Shapiro-Wilks), estableciendo un nivel de $p \leq 0,05$ para la significación estadística.

Resultados: Resultados: El desarrollo de *biofilm* de los microorganismos a las 24 h fue significativamente mayor en presencia de CSG que de RPMI (CA p=0,0304; LA p=0,0056). Se observaron disminuciones significativas en el desarrollo del *biofilm* de CA en presencia de LA (79% en RPMI p=0,0086 y 39% en CSG, p=0,0197) o sobrenadante de cultivo (55% p= 0,013 en RPMI; 32% en CSG p=0,0009). A las 48 h, el *biofilm* de CA en presencia del sobrenadante de LA recuperó los valores del control (ausencia de sobrenadante; p=0,115 en RPMI; p=0,64 en CSG). La proporción TG/L de CA (38,7±10,1) mostró una disminución significativa en contacto tanto con la suspensión del probiótico (22±12; p= 0,0430) como en contacto con el sobrenadante de LA (10,5±8,8; p=0,0073).

Conclusiones: Conclusiones: Estos resultados indicarían la capacidad inhibitoria de los probióticos o de sus productos sobre factores de virulencia de *C.albicans*, abriendo la posibilidad de nuevos campos de estudio sobre la microbiota bucal.

VI 089

0557 - ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE ESPECIES CIRCULANTES DE *COCCIDIOIDES* SPP. EN LA REPUBLICA ARGENTINA UTILIZANDO LA REGIÓN ITS1-5.8S-ITS2 ADNR

MOTTER, Andrea Nora [1] | ABRANTES, Ruben[2] | FERNÁNDEZ, Julián[2] | LÓPEZ JOFFRE, Cecilia[2] | TORANZO, Adriana[2] | SALAS, Damián[2] | VIALE, Mariana[2] | VIVOT, Flavia[2] | CANTEROS, Cristina[2] | SUÁREZ-ALVAREZ, Roberto[2]

UOCCB. ANLIS DR. CARLOS G. MALBRÁN [1]; INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [2]

Introducción y Objetivos: Introducción: *Coccidioides immitis* y *C. posadasii*, únicas especies descriptas del género Coccidioides, son los agentes causales de la coccidioidomicosis (CDM), una micosis sistémica endémica de las regiones áridas y semiáridas del continente americano. Los hongos dimorfos patógenos primarios, pertenecen al orden taxonómico de los Onigenales, la mayoría de ellos están incluidos en la familia Ajellomycetaceae, excepto *Coccidioides* que se ubica en la familia Onigenaceae. En trabajos previos de nuestro laboratorio la secuenciación parcial del gen Ag2/PRA y de cada una de las regiones ITS nos permitieron diferenciar ambas especies sin ambigüedad, determinando que *C. posadasii* es la especie circulante en Argentina. En particular, la región parcial del gen del ADNr (ITS1-5.8S-ITS2) permite establecer relaciones filogenéticas entre diferentes especies de hongos. Objetivo: analizar la región completa (ITS1-5.8S-ITS2) de los aislados de *Coccidioides* spp. para conocer las relaciones filogenéticas con otros hongos del orden Onygenales.

Materiales y Métodos: Materiales y métodos: Se analizaron 54 cepas de origen clínico de *C.posadasii* de Argentina aislados entre 1967 y 2018. Se incluyeron además, 7 cepas de *C. immitis* de pacientes de México. Las secuencias consenso de cada cepa se obtuvieron por análisis y edición utilizando el programa BioEdit 7.2.6. Para establecer las relaciones filogenéticas dentro del Orden se importaron las secuencias depositadas en el GenBank de al menos dos miembros de cada género analizado. El árbol fue generado utilizando el programa Mega 6 con el algoritmo de Máxima Verosimilitud con el modelo Tamura 3-parámetros que mejor ajustaba a los datos y se utilizó la técnica de bootstrap como soporte con 1000 pseudoréplicas. *Aspergillus fumigatus* se utilizó como raíz del árbol.

Resultados: Resultados: En el árbol generado, el orden Onygenales, que incluye las familias Onygenaceae, Arthrodermataceae, Gimnoascaceae y Ajellomycetaceae, forma ramas separadas con valores de bootstrap superiores al 90%. En el análisis de la familia Onygenaceae el género *Coccidioides* forma un grupo bien definido (con 96% de soporte) en relación con los otros géneros de la familia *Uncinocarpus* y *Chrysospurium*. Por su parte *C. posadasii* y *C. immitis* se separaron en dos ramas independientes con valores de bootstrap de 74 y 78%, respectivamente. *Coccidioides immitis* presenta un mayor polimorfismo en esta región observable únicamente en el análisis a nivel de género.

Conclusiones: Conclusiones: La región parcial del ADNr (ITS1-5.8S-ITS2), no sólo nos permite diferenciar las especies de *Coccidioides*, sino también relacionarlas con especies emparentadas, a diferencia de otros marcadores utilizados para su identificación.

VI 091

0604 - ECOFISIOLOGÍA DE *FUSARIUM CHAQUENSE* UNA NUEVA ESPECIE PRODUCTORA DE TRICOTECENOS TIPO A AISLADA DE PASTOS NATURALES EN LOS HUMEDALES DE CHACO, ARGENTINA

NICHEA, Maria Julia | CENDOYA, Eugenia | TORRES, Adriana | **RAMIREZ, Maria Laura**

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN MICOLOGÍA Y MICOTOXICOLOGÍA (IMICO). CONICET-UNRC

Introducción y Objetivos: *Fusarium chaquense* es una nueva especie de *Fusarium* aislada de pastos naturales asintomáticos (familia Poaceae) presentes en los humedales de Chaco, destinados a la alimentación bovina. La región que comprende los humedales es uno de los tres biomas que presenta mayor diversidad de la Argentina. A través de estudios filogenéticos hemos demostrado que pertenece al complejo de especies de Fusarium sambucinum. Además, el perfil toxicogénico reveló que es un potente productor de tricotecenos tipo A, especialmente toxina T-2 y toxina HT-2, también es productor de otras micotoxinas como beauvericina (BEA). *F. chaquense* se aisló con alta frecuencia de la región superior de las gramíneas pertenecientes a la Flia. *Poaceae* (173 plantas muestreadas durante 2011 y 2014), representando el 61% del total de aislados de *Fusarium*. Como parte de la caracterización de esta nueva especie, se planteó estudiar el efecto de factores ambientales tales como la actividad acuosa (a-W), la temperatura y sus interacciones sobre el crecimiento y la producción de micotoxinas por 2 cepas de *F.chaquense* en un medio de cultivo a base de pasto.

Materiales y Métodos: En este trabajo se determinó in vitro el efecto de la a_W (0,995- 0,91), temperatura (15, 25, y 30 °C), el tiempo de incubación (5, 15 y 25 días) y sus interacciones sobre el crecimiento y la producción de micotoxinas. Los datos obtenidos (fase de latencia, velocidad de crecimiento y producción de micotoxinas) fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA). El nivel de significancia usado en todos los análisis fue de $p < 0,01$.

Resultados: Las máximas velocidades de crecimiento, para ambas cepas, fueron obtenidas a la máxima a_W (0,995) y a 25 °C, las cuales fueron decreciendo a medida que la a-W de los medios se reducía. Con respecto a la temperatura las mayores velocidades de crecimiento se obtuvieron a 25 °C, decreciendo en el siguiente orden 30 y 15 °C, independientemente de las a_W. Ambas cepas fueron capaces de crecer a la mínima a_W estudiada (0,91). Los máximos niveles de producción de T-2, para ambas cepas evaluadas, fueron obtenidos a la máxima a_W (0,995), a 30 °C y al menor tiempo de incubación (5 días). En cuanto al otro ticoteceno tipo A estudiado, HT-2, las máximas concentraciones, para ambas cepas, se detectaron a las a_W 0,95 - 0,98, a 15 °C y a 25 días de incubación. Con respecto a la BEA, los niveles máximos, para ambas cepas, fueron obtenidos a la máxima a_W (0,995), a los 5 días de incubación, a diferentes temperaturas de incubación, 25 y 30 °C para cada cepa.

Conclusiones: Estos estudios revelaron que *F. chaquense* sería una especie muy versátil ya que puede crecer y producir micotoxinas en un amplio rango de a_W y temperaturas. Esta plasticidad le daría una ventaja adaptativa sobre otras especies de Fusarium, lo que explicaría su preponderancia en pastos naturales que crecen en los humedales de Chaco.

VI 092

0668 - LOS PATÓGENOS FOLIARES DEL ARBOLADO URBANO DE BOGOTÁ (COLOMBIA), TAMBIÉN PUEDEN SER CONTROLADOS CON *TRICHODERMA* SPP.

SÁNCHEZ LEÓN, Gina Lorena

JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ - JOSÉ CELESTINO MUTIS

Introducción y Objetivos: El arbolado urbano de la ciudad de Bogotá es susceptible al ataque de diferentes microorganismos patógenos, lo cual disminuye la prestación de servicios ecosistémicos que estos organismos

brindan a la ciudad y sus habitantes. Sin embargo, actualmente dichos fitopatógenos se controlan con productos químicos los cuales tienen efectos negativos en el ecosistema. Por esta razón, es de vital importancia promover la sanidad forestal a partir del uso de biocontroladores, ya que se ha demostrado que son eficientes en el manejo de enfermedades y no tienen efectos nocivos sobre las plantas, la fauna asociada, el medio ambiente y el ser humano. Por ende, el objetivo de esta investigación es evaluar el potencial antagónico de cinco cepas de *Trichoderma* spp. contra fitopatógenos foliares del arbolado urbano.

Materiales y Métodos: Para lograrlo se muestrearon 28 parques de la zona oriental de la ciudad, en cada uno se recolectaron hojas sintomáticas, las se transportaron al laboratorio en bolsas individuales para evitar contaminación cruzada. Luego se desinfectaron superficialmente con agua corriente, hipoclorito de sodio, alcohol y agua destilada estéril, posteriormente se sembraron en PDA (Potato Dextrose Agar) y se incubaron durante 8 días a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo, se hizo impronta de los hongos aislados y se identificaron a género. Finalmente, se realizaron las pruebas de antagonismo in vitro, inoculando el patógeno y el antagonista en un enfrentamiento dual e incubándolos en PDA a temperatura ambiente por 8 días, luego se midió el radio de crecimiento y así determinar el porcentaje de inhibición.

Resultados: Los resultados que se obtuvieron evidencian que cuatro de las cinco cepas de Trichoderma spp. evaluadas inhiben el crecimiento a los fitopatógenos en un porcentaje mayor o igual al 60%, razón por la cual son potenciales biocontroladores de hongos patógenos en campo. Además, los microorganismos *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp. y *Trichothecium* spp., resultaron ser los más susceptibles a la inhibición producida por las cepas *Trichoderma* spp. De igual forma es importante mencionar que la interacción entre los fitopatógenos y los antagonistas varía dependiendo de las especies que interactúan.

Conclusiones: Con base en lo anterior, se puede concluir que las cuatro cepas de *Trichoderma* spp. con mayor porcentaje de inhibición son candidatas promisorias para ser implementadas como controladores biológicos de algunos patógenos foliares que afectan ciertas especies del arbolado urbano de la ciudad de Bogotá.

VI 093

0713 - ÍNDICES DE OCUPACIÓN DE NICHOS POR *A. FLAVUS, F. VERTICILLIOIDES* Y *T. FUNICULOSUS* EN AMBIENTES HERMÉTICOS

CASTELLARI, Claudia [1] | MARCOS VALLE, Facundo[1] | PACIN, Ana Maria[2]

UNIDAD INTEGRADA BALCARCE (FCA, UNMDP – EEA BALCARCE, INTA) RUTA 226 KM 73,5 BALCARCE [1]; FUNDACIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS TERESA BENEDICTA DE LA CRUZ, LUJÁN [2]

Introducción y Objetivos: El nivel de similitud ecológica entre especies fúngicas en un nicho puede ser expresado a partir de la comparación de los perfiles de uso de fuentes de carbono (FC), in vitro, y la elaboración del índice de superposición de nichos (NOI). Por otro lado, factores extrínsecos como la composición de gases del ambiente de crecimiento pueden afectar las interacciones entre las especies y en consecuencia el NOI. El objetivo del presente trabajo fue determinar, in vitro, los índices NOI de especies micotoxigénicas, *A. flavus* y *F. verticillioides* y no toxigénicas, *T. funiculosus*, aisladas de maíz almacenado en silos bolsa ubicados en el sudeste bonaerense, Argentina.

Materiales y Métodos: Se evaluaron 18 aislamientos pertenecientes a las tres especies mencionadas. Éstos fueron inoculados por triplicado en tubos con un medio base mínimo ($NaNO_3$, $MgSO_4.7H_2O$, K_2HPO_4 y KH_2PO_4), al que se le adicionaron individualmente 11 FC (aminoácidos, carbohidratos y ácidos grasos). Se realizaron dos ensayos, uno en ambiente sin restricción de O_2 (TSR) y otro en condiciones herméticas utilizando frascos con cuatro concentraciones diferentes de O_2 y $CO¬_2$ (M1: 1%-25%; M2:5%-25%; M3:5%-15%; M4:21%-0%) donde fueron colocados previamente los tubos. Los frascos se incubaron a 25 °C durante siete días y posteriormente se registró la presencia/ausencia de micelio, considerando positivo el desarrollo fúngico. Se calcularon los NOI (número de FC utilizadas por ambos aislamientos/número total de FC utilizadas por cada una de ellos) para cada uno de los aislamientos y se establecieron las interacciones entre ellos y entre las tres especies.

Resultados: En general, se observó que *A. flavus* y *F. verticillioides* pudieron coexistir en TSR y en los ambientes M3 y M4, compitiendo por las mismas fuentes de nutrientes. *Talaromyces* sp. presentó mayor capacidad que las especies micotoxigénicas para adaptarse aunque su crecimiento fue inhibido por concentraciones de O_2 menores que 1% (M1). Los aislamientos de *F. verticillioides* y *T. funiculosus* presentaron índices NOI que indicaron la coexistencia en el ambiente M3. La reducción de O_2 por debajo de 5% y el incremento de CO_2 por encima de 15% (M1 y M2), afectó negativamente la capacidad de colonización y esporulación de *F. verticillioides* y de *A. flavus* siendo dominadas por *T. funiculosus* en los ambientes M1 y M2. La reducción del O_2 y el incremento de CO_2 en ambientes herméticos como los silos bolsa que almacenan granos, influyen en el desarrollo de la micobiota micotoxigénica que coloniza inicialmente la matriz.

Conclusiones: Monitorear la evolución de gases en ambientes herméticos de almacenamiento de granos es relevante ya que influye en el comportamiento de las especies fúngicas asociadas a ellos y en las estrategias a diseñar para el control de la biota micotoxigénica que deteriora los mismos durante el tiempo que dure su conservación.

VI 094

0809 - ACTIVIDAD ENZIMÁTICA IN VITRO DE *ASPERGILLUS FLAVUS* EN PRESENCIA DE GLIFOSATO

BENITO, Nicolás | MAGNOLI, Karen | ALUFFI, Melisa | CARRANZA, Cecilia | BARBERIS, Carla | MAGNOLI, Carina

IMICO-CONICET

Introducción y Objetivos: Las enzimas son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas. Las especies de *Aspergillus* producen una gran variedad de enzimas hidrolíticas, tales como: pectinasas, amilasas, proteasas, glucosidasas, fosfatasas y lipasas. Se ha observado que la determinación de la producción enzimática por los hongos es un buen indicador de la contaminación fúngica temprana previa al crecimiento de los mismos. No existe suficiente información sobre el efecto del glifosato (GP) sobre la producción de estas enzimas en las etapas iniciales del desarrollo fúngico, por lo que en el presente trabajo, se propuso evaluar el efecto in vitro del herbicida sobre la producción de enzimas glucosidasas relacionadas a la patogenia del hongo bajo diferentes condiciones de a_W.

Materiales y Métodos: Se seleccionó una cepa de *Aspergillus flavus*, causante de podredumbre de la mazorca de maíz (AFM 16). Se preparó un medio Agar harina de maíz (AHM) al 3%. Las actividades acuosas de los medios se ajustaron a 0,98, 0,96 y 0,94 con el agregado de glicerol. Posterior al proceso de esterilización se adicionaron los volúmenes correspondientes de glifosato (Roundup Control Max) para obtener concentraciones de 0, 30 y 300 mM. Se removieron 3 discos de agar (6 mm de diámetro) de cada tratamiento a las 0, 24, 48, 72 y 96 hs de incubación. Se les adicionó buffer fosfato de extracción. Las muestras se agitaron a 4ºC, se recuperó 1 ml de sobrenadante y se centrifugó a 4ºC. Se detectó la actividad total de dos enzimas hidrolíticas, β-D-glucosidasa y α-D-galactosidasa, utilizando los sustratos y los buffers correspondientes para cada una de ellas. Se determinó la actividad enzimática como el incremento de la densidad óptica producida por la liberación del sustrato al sufrir la hidrólisis enzimática. La actividad enzimática se expresó como micromoles de sustrato liberado por minuto.

Resultados: En general, en los controles, a todas las a_W ensayadas, la actividad enzimática de la cepa fue mayor para α-D-Galactosidasa que para β-D-glucosidasa. A 0,96 y 0,94 a_W la actividad enzimática se redujo a medida que la concentración de GP aumentó. Cabe destacar que, a 0,98 de a_W y a 48 horas de incubación, un aumento significativo en la actividad de β-D-glucosidasa (30 %) fue observado cuando la cepa desarrolló con 30 mM de GP. Durante la evaluación de la actividad de α-D-Galactosidasa, los máximos niveles de actividad fueron observados a 0,96 a_W, mientras que, independientemente a la a_W testeada, la actividad enzimática máxima se produjo tanto a 24 como a 48 y 72 horas, para 0,96; 0,98 y 0,94 respectivamente. En concordancia con lo observado para la actividad de β-D-glucosidasa, a medida que se incrementó la concentración de GP al medio de cultivo, la actividad de α-D-Galactosidasa se redujo significantemente.

Conclusiones: El efecto de este herbicida en la producción enzimática podría suponer la modificación del crecimiento fúngico sobre el sustrato y la consecuente producción de micotoxinas.

CAM - Micología clínica

VI 095

0806 - ASPERGILOSIS EN SENOS PARANASALES EN PACIENTE CON APLASIA MEDULAR MIELOIDE PROVENIENTE DEL HOSPITAL DEL NIÑO JESÚS DE SAN MIGUEL DE TUCUMÁN

ANTICH RIZZA, Maria Constanza | ASSA, Jose | GOMEZ, Gladys | SEGURA, Ines

HOSPITAL DEL NIÑO JESUS

Introducción: La aspergilosis de senos paranasales es una entidad poco común, sin embargo su frecuencia ha aumentado en los últimos años. Se puede manifestar de cuatro formas: alérgica, no invasiva, invasiva y fulminante. Su diagnóstico clínico es difícil; en estadios iniciales se parece clínicamente a sinusitis bacterianas y en estadios tardíos a procesos malignos.

Caso Clínico: Niño de 6 años de edad procedente de Termas de Río Hondo-Santiago Del Estero acude al Hospital del Niño Jesús de Tucumán, en donde es internado por malestar general, dolor abdominal, Síndrome febril sin foco, Neutropenia Febril y lesiones en rostro. Durante su internación presentó rinorrea mucosa, dolor en senos paranasales con tumefacción, calor y placas blanquecinas en tabique nasal. De acuerdo al estado clínico del paciente se realiza interconsulta con los servicios de otorrinolaringología y micología. Se procede a la toma de muestra e inmediato procesamiento. Se realizaron exámen en fresco, coloraciones y cultivo en medio Sabouraud y Agar papa a 28º y 37 ºC que se incubaron durante 20 días. En la sección de micología se informó:

en el examen directo se observan hifas hialinas tabicadas ramificadas dicotómicamente; en los cultivos se obtuvo desarrollo de colonias de color verde amarillento y aspecto pulverulento-velloso, que al examen microscópico revelaron la presencia de estructuras compatibles con *Aspergillus* sección Flavi.

Conclusiones: Una vez establecido el diagnóstico de Aspergilosis en senos paranasales se implementó un esquema terapéutico con Anfotericina B liposomal, Voriconazol y Anidulafungina con evolución favorable. Si bien la aspergilosis en senos paranasales es una entidad característica en pacientes neutropénicos y con trasplante de médula ósea; para evitar el elevado índice de mortalidad y morbilidad asociado con este proceso, es fundamental realizar un diagnóstico y tratamiento precoz.

VI 096
0838 - ESPOROTRICOSIS FELINA POR *SPOROTHRIX BRASILIENSIS*, CON CONTAGIO A HUMANOS EN BUENOS AIRES, REPÚBLICA ARGENTINA

ETCHECOPAZ, Alejandro Nazareno[1] | LANZA, Natalia[1] | FRANCO, Pablo[1] | POLA, Santiago[2] | TOSCANINI, María[2] | BRITO DEVOTO, Tomás[2] | LÓPEZ DANERI, María[2] | **MESPLET, María** [1] | IOVANNITTI, Cristina[2] | CUESTAS, María[2]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, CÁTEDRA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS [1]; CENTRO DE MICOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGIA MÉDICA (IMPAM), [2]

Introducción: La esporotricosis es una micosis subcutánea por implantación traumática, causada por hongos termodimórficos del complejo *Sporothrix schenckii* (Ss). Afecta a diversas especies de sangre caliente, entre ellos, felinos, caninos y humanos. Tradicionalmente, se reconoce al traumatismo con vegetales punzantes o corteza de árboles como fuente de infección pero numerosos trabajos documentan al arañazo y mordedura del gato enfermo como fuente de infección, definiendo de esta manera dicha enfermedad como zoonosis. En este trabajo se describe un caso de esporotricosis felina por *Sporothrix brasiliensis* (Sb) y contagio por contacto directo de las lesiones del gato y por inoculación traumática a través del rasguño a personas en el partido de Tres de Febrero.

Caso Clínico: Paciente: Felino, hembra, común europeo, castrada, 2 años de edad, buen estado general, con hábitos peridomiciliarios. La lesión inicial era nodular en el puente nasal y al momento de la consulta se observa una lesión ulcerosa con drenaje infraorbital de dos semanas de evolución. Se tomaron muestras bajo sedación de la lesión para citología y cultivos a 28 y 37°C en agar Sabouraud. Lo mismo se realizó con muestras de uñas de los miembros delanteros. Se extrajo sangre para hemograma, test de FIV y FeLV y se obtuvo suero para detección de IgG antiesporotricosis. Citología: Reacción inflamatoria con presencia de neutrófilos y macrófagos con abundantes estructuras en su citoplasma compatibles con levaduras del género *Sporothrix*. Hemograma: Leucocitosis con desvío a la izquierda. FIV/FeLV: Negativo. IgG antiesporotricosis: Positivo. Cultivo de las muestras: Desarrollo de hongo levaduriforme a 37°C y de hongo filamentoso a 28°C con micromorfología compatible con Ss. Se comenzó tratamiento con Itraconazol 11mg/kg/día por 3 meses logrando resolución completa. Es de destacar que la veterinaria que lo revisó acusó una lesión nódulo ulcerosa en el dorso de la mano derecha donde había sido rasguñada por el felino con compromiso linfático. A su vez, la hija del propietario del felino (3 años de edad) presentó una lesión ulcerosa en la porción lateral de la cadera. En ambos casos se confirmó el diagnóstico de esporotricosis mediante aislamiento fúngico a partir de las muestras clínicas obtenidas de las lesiones y se comenzó un tratamiento específico. Los 4 aislamientos fúngicos obtenidos fueron identificados a nivel de criptoespecie como *S. brasiliensis* mediante la amplificación, secuenciación y análisis filogenético del gen de calmodulina.

Conclusiones: El gato constituye la principal fuente de infección en lo que respecta a la transmisión zoonótica de la esporotricosis. La extensión de aéreas subtropicales por el calentamiento global y la estrecha convivencia con las mascotas eleva el riesgo epidemiológico de transmisión, por lo que se destaca la importancia de un diagnóstico específico, precoz y definitivo de esta enfermedad y la importancia del trabajo conjunto entre medicina veterinaria y humana.

VI 097
0846 - CANDIDURIAS EN PEDIATRÍA

GUZZETTI, Luciana | BETTIOL, Marisa | SEGURA, María Belén | VESCINA, Cecilia

HIAEP SOR MARIA LUDOVICA, LA PLATA

Introducción y Objetivos: Las infecciones urinarias por levaduras del género *Candida* son cada vez más frecuentes en pacientes hospitalizados (5-12%). Se asocian a factores de riesgo como inmunodepresión, sonda urinaria, antibioticoterapia de amplio espectro. *Candida* es parte de la microbiota humana, por lo que es importante, y frecuentemente difícil, la distinción entre colonización e infección urinaria. El objetivo de este

trabajo es caracterizar las candidurias ocurridas en nuestro hospital y evaluar la sensibilidad a los antifúngicos (ATF).

Materiales y Métodos: Se realizó un análisis retrospectivo de los urocultivos de pacientes internados en la institución durante un período de 2 años (Marzo 2017- Febrero 2019). Se definió como episodio de candiduria a los aislamientos de *Candida* en urocultivos obtenidos por punción suprapúbica (PSP) o con directo positivo y/o reacción inflamatoria y/o recuento >=10^4 ufc/ml y/o muestras provenientes de neonatología y/o inmunocomprometidos. Las muestras de orina fueron sembradas en agar cromogénico CPS (bioMeriéux) y los aislamientos de *Candida*, procesados por Vitek2 (bioMeriéux) para su tipificación y sensibilidad a los ATF.

Resultados: Durante el periodo estudiado, las candidurias representaron el 11,7% de las infecciones urinarias hospitalarias. Se registraron 80 episodios. Las salas de cuidados intensivos fueron las más afectadas (39% neonatología, 34% UTI), seguidas por las salas de clínica, oncología y nefrología (18, 5 y 5% respectivamente). *C. albicans* fue la especie predominante (68%), seguida de *C. tropicalis* (12%), *C. lusitaniae* (5%), *C. parapsilosis* (4%) y *C. spp* (11%). Se registraron 2 infecciones mixtas en muestras obtenidas por PSP. Se observó prevalencia del sexo masculino (67,5%). Los pacientes con edades entre 1ddv y 14 años, fueron estratificados: <= 1 año (64%); 2 a 10 años (25%) y >10 años (11%). En <=1 año, el 29% fueron neonatos (<= 1 mes). De los episodios analizados, el 25 % presentó examen directo positivo para levaduras y 17,5% reacción inflamatoria. Se ensayó la sensibilidad a ATF en el 86% (69) de los episodios, en todos ellos se observó sensibilidad a anfotericina B y voriconazol. 2 aislamientos de *C. albicans* presentaron CIM 4µg/ml a fluconazol, correspondiendo a la categoría SDD de CLSI (2018). También se registró un aislamiento de *C. sp* con CIM 8µg/ml a fluconazol.

Conclusiones: Conclusiones: se han estudiado las candidurias ocurridas en hospital pediátrico en un período de 2 años, correspondiendo al 11,7% de las infecciones urinarias hospitalarias. Las salas predominantes fueron las de cuidados intensivos (73%) y niños <=1 año los más afectados (64%). La especie más frecuente *C. albicans* (68%), notoriamente se registraron más episodios por *C. lusitaniae* que por *C. parapsilosis*. El sexo masculino fue el más afectado (67,5%). El 25% tuvo examen directo positivo y 17,5% reacción inflamatoria. No se registraron aislamientos resistentes a ninguno de los antifúngicos ensayados.

VI 098

0851 - FUNGEMIA POR CANDIDA ALBICANS A PARTIR DE CANDIDIASIS CUTÁNEA CONGÉNITA

MUÑOZ, Gisela | GOMEZ COLUSSI, Andrea Florencia | BERLI, Rocio | ARGARAÑÁ, María Fernanda

HOSPITAL J.B ITURRASPE

Introducción: Las levaduras del género *Cándida* forman parte de la microbiota normal humana del tracto digestivo, piel y vagina. Pueden causar infecciones de piel, uñas y membranas mucosas y, en ciertos pacientes susceptibles, presentarse como una infección diseminada. A pesar de la elevada frecuencia de colonización vaginal por levaduras en gestantes, la infección ascendente y las complicaciones obstétricas son muy infrecuentes. La candidiasis cutánea congénita (CCC) es una infección de transmisión vertical producida por *Cándida spp*., que se desarrolla en los primeros 6 días de vida. El espectro de manifestaciones clínicas es amplio, y abarca desde infecciones cutáneas localizadas y benignas (dermatitis del pañal, muguet) hasta formas sistémicas graves. Su presentación más habitual es una erupción cutánea de carácter benigno, sin embargo, en determinados casos (recién nacidos pretérmino o de bajo peso) puede llegar a producir una enfermedad sistémica grave.

Caso Clínico: Se describe el caso de un recién nacido pretérmino (33 semanas por Capurro), nacido por parto vaginal con 1900 g de peso. Ingresó a Unidad de cuidados intensivos neonatal por requerir intubación a partir de apnea secundaria. Comenzó tratamiento con ampicilina y gentamicina. A las 48h se constató al examen físico piel y faneras rubicundas con áreas descamativas y muget. Entre los antecedentes perinatales, su madre refirió episodios reiterados de candidiasis vaginal durante el embarazo que no recibieron tratamiento. Se interpretó el cuadro como de origen fúngico, se obtuvo una muestra de hemocultivo y se agregó fluconazol 12mg/Kg/dia. En el laboratorio de microbiología la muestra fue incubada en el sistema automatizado BacT/Alert y resultó positiva a las 48h. En el examen microscópico directo se observaron levaduras brotadas. Se cultivó en Agar chocolate y Saboureaud glucosado. A las 24h de incubación se obtuvo desarrollo de colonias blancas cremosas. Se realizó identificación y pruebas de sensibilidad mediante el sistema automatizado Vitek 2C obteniendo como resultado *Candida albicans* sensible a fluconazol, voriconazol y equinocandinas. En la interconsulta del paciente con el Servicio de dermatología, se diagnosticó CCC por antecedentes. Luego de la terapia antifúngica sistémica el neonato tuvo evolución favorable.

Conclusiones: Se presenta el caso de fungemia por *C. albicans* a partir de CCC. Si bien CCC es poco frecuente, debería sospecharse en los recién nacidos que presenten un exantema versículo-pustuloso en los primeros días de vida ya que, asociado con determinados factores de riesgo, puede presentar complicaciones sistémicas. Por otra parte consideramos importante tratar oportunamente las infecciones vaginales por *C. albicans* durante el embarazo, con el fin de disminuir los riesgos potenciales.

VI 099

0854 - PROTOTIPO DE IMMUNOBLOT STRIP PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE HISTOPLASMOSIS

CABEZA, Matías S[1] | TORANZO, Adriana[2] | MACEDO, Daiana[1] | CANTEROS, Cristina[2] | GAMARRA, Soledad[1] | MARCIPAR, Ivan[3] | BERLI, Claudio La[4] | **GARCIA EFFRON, Guillermo** [1]

LABORATORIO DE MICOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO MOLECULAR - FACULTAD DE BIOQUÍMICA - UNL-CONICET [1]; ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [2]; LABORATORIO DE TECNOLOGÍA INMUNOLÓGICA, FACULTAD DE BIOQUÍMICA, UNL, CONICET [3]; INTEC (UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL-CONICET) [4]

Introducción y Objetivos: La histoplasmosis es una infección fúngica sistémica que se adquiere por la inhalación de los conidios del hongo dimórfico *Histoplasma capsulatum*. Esta micosis es endémica de las zonas húmedas de Argentina (provincias del Litoral y zona pampeana) y se manifiesta inicialmente como una infección pulmonar benigna que puede diseminarse causando infecciones graves como la histoplasmosis progresiva diseminada.

Materiales y Métodos: Las secuencias de interés correspondientes a los antígenos diagnósticos H y M se amplificaron por PCR utilizando ADN genómico como molde o empleando genes sintéticos. Se ligaron primero a un vector para conservación y secuenciación (pGEM-T Easy) y posteriormente a un vector de expresión inducible. Este último genera una fusión a la maltose binding protein de Escherichia coli y a una etiqueta de hexahistidinas. Se indujo la expresión de los antígenos recombinantes y se obtuvieron los extractos crudos por sonicado. De estos, se purificaron las proteínas de interés por cromatografía de afinidad a metal inmovilizado (IMAC). Finalmente, se evaluó la antigenicidad de las proteínas mediante Dot Blot, utilizando un suero anti-histoplasmina obtenido en conejo.

Resultados: Los antígenos se adecuaron al formato Immunoblot Strip y se evaluó su antigenicidad frente a sueros de pacientes con histoplasmosis, paracoccidioidomicosis y coccidioidomicosis. Se evidenció la ausencia de reacciones cruzadas en la zona de respuesta y además que las tiras son estables al menos por seis meses.

Conclusiones: Se logró obtener una primera versión de un kit diagnóstico de histoplamosis que en primera instancia se presenta confiable y robusto.

VI 100

0930 - CRIPTOCOCOSIS DISEMINADA EN INMUNOCOMPETENTES: ABORDAJE INTERDISCIPLINARIO

OCHIUZZI, Maria Eugenia [1] | GIULIANO, Carla[1] | GERSTEIN, Andrea[1] | GARRO, Grisel[1] | CADENAS BERECOECHEA, Alejandro[1] | MARIN, Emmanuel[2]

HOSPITAL CARLOS G. DURAND [1]; HOSPITAL MUÑIZ [2]

Introducción: La Criptococosis es una micosis diseminada ocasionada por una levadura capsulada del complejo *Cryptococcus neoformans /Cryptococcus gattii*. Penetra por vía inhalatoria y produce infección pulmonar primaria; por su neurotropismo la manifestación clínica más frecuente es la meningoencefalitis. Afecta principalmente a huéspedes inmunocomprometidos. Objetivos: Presentar dos casos de Criptococosis diseminada en pacientes HIV negativos.

Caso Clínico: CASO 1: Paciente de sexo masculino de 41 años, HIV negativo, tabaquista, oriundo de La Rioja donde trabajó como recolector de aceitunas. Ingresa por cuadro febril, tos y pérdida de peso de 2 meses de evolución, y cefalea en los últimos 5 días. Se realiza TAC de tórax: masa pulmonar en lóbulo superior izquierdo y TAC de SNC: áreas hipodensas periventriculares. Histopatología de punción con aguja fina (PAAF) de pulmón: se observan granulomas y estructuras redondeadas eosinófilas con ocasionales gemaciones, PAS y mucicarmín positivas vinculables a Cryptococcus sp. Ausencia de células neoplásicas. Micológico de LCR: fresco con tinta china: levaduras capsuladas. Inicia tratamiento con fluconazol (FCZ) y anfotericina b (AMB). Cultivo de LCR: desarrolla *C. gattii*, genotipo VGI. Perfil inmunológico: dentro de parámetros normales. Evoluciona con hipertensión endocraneana (HTE), requiere múltiples punciones lumbares (PL) con buena respuesta y continúa tratamiento ambulatorio con FCZ. CASO 2: Paciente de sexo masculino de 56 años, HIV negativo, plomero, residente en CABA, en seguimiento ambulatorio por nódulo pulmonar, tos productiva, fiebre y cefalea de 1 mes de evolución. Consulta por progresión de la clínica, se realiza PAAF de pulmón, histopatología: estructuras compatibles con *Cryptococcus sp*., ausencia de células neoplásicas. TAC de SNC: imágenes hipodensas a nivel de corona radiata y centro semioval, ventriculomegalia. Micológico de LCR: fresco con tinta china: levaduras capsuladas, antigenorraquia 1:10000 y antigenemia 1:50000. Recibe FCZ y AMB. Se aísla en el cultivo de LCR C. gattii genotipo VGI. Los estudios inmunológicos revelan discreta linfopenia. A los 15 días evoluciona con HTE con descenso de la antigenorraquia y antigenemia y cultivo de LCR negativo. RMN de SNC con imágenes

hipodensas subcorticales sugestivas de vasculítis, se inicia corticoides. Se da de alta con FCZ pero se reinterna por cefalea; presenta neumonía por *Pneumocystis jirovecii* y aspirado traqueal con C. gattii, y larvas de *Strongiloides stercoralis*. Cultivo de LCR y antigenorraquia: negativos. A pesar del tratamiento, fallece.

Conclusiones: La criptococosis diseminada por *C. gattii* es un diagnóstico presuntivo poco frecuente. Si bien la sospecha y los exámenes tuvieron como objeto confirmar un proceso oncológico, fue la citología la que orientó a la etiología infecciosa y mediante el cultivo de LCR se arribó al diagnóstico de certeza, poniendo de manifiesto la importancia del trabajo multidisciplinario.

VI 101

0945 - DETERMINACION DE ESPECIES Y PERFIL ANTIFUNGICO DE CANDIDASIS ORAL EN PACIENTES QUE CONVIVEN CON VIH

CARRIZO, Silvia Guadalupe | PRIETO, Carla Soledad | VARGAS DURAN, Florencia | LOPEZ, Teresa

HOSPITAL RAWSON

Introducción y Objetivos: La candidiasis oral es la infección fúngica oportunista más comúnmente informada en individuos que conviven con el virus de la Inmunodeficiencia humana (VIH). Aunque *C. albicans* es la especie más frecuentemente aislada en infecciones orales oportunistas, en la última década se ha observado un incremento de otras levaduras no *C. albicans* tales como: *C tropicalis, C parapisilosis, C glabrata, C krusei* y *C dubliniensis*. Objetivos: Recolectar las muestras correspondientes para realizar el diagnostico en personas que viven con VIH con signos clínicos de candidiasis oral. Determinar las diferentes especies de *C. spp*. aisladas de cavidad oral Conocer el perfil de resistencia a los antifungicos de las cepas aisladas. Determinar los fenotipos de resistencia frente a fluconazol

Materiales y Métodos: Fueron incluidos en este estudio un total de 42 Individuos adultos VIH que presentaban lesiones orales compatibles con candidiasis oral. En un periodo comprendido entre el 01/01/2017 hasta el 31/05/2019.Las muestras fueron obtenidas con hisopo estéril y colocadas en medio de transporte Cary Blair. Se realizó examen directo en fresco con Hidróxido de Potasio y cultivo en medio de Saboraud dextrosa agar adicionado con antibióticos, y Brain heart infusion agar e incubados a 28°C y 37°C respectivamente por 7 días. En el caso de visualizarse levaduras en el examen directo, se realizó siembra primaria en medio cromogénico CHROMagarTM. La identificación presuntiva se realizó según el color de la colonia en medios cromogénicos, la asimilación de azucares: trehalosa, xilosa, sacarosa la capacidad de producir tubo germinativo, y de desarrollar a 42°C. El Diagnóstico definitivo y pruebas de sensibilidad se realizaron por Vitek 2 (Biomerieux) que detecta Concentración inhibitoria mínima a fluconazol, anfotericina, voriconazol, caspofungina y micafungina. A *C. dubliniensis* se practicó además sensibilidad por E-test (fluconazol) Biomerieux. Se realizó control de calidad de ambos métodos con cepas ATCC.

Resultados: El 66,6% (n28) de la población fueron hombres y el 33.3% (n14) fueron mujeres. La edad promedio fue de 32 años para ambos sexos. El examen directo con hidroxido de potasio fue positivo en todas las muestras, observándose levaduras y pseudohifas. Se aislaron 43 cepas de *C. spp*. de 42 pacientes. De las 43 cepas aisladas 38 fueron *C albicans*, 3 fueron *C dublinensis*, 1 *C glabrata*, 1*C* Krusei. De los aislamientos de C albicans 33/38 fueron sensibles a todos los antifungicos probados, 1 aislamiento mostro sensibilidad intermedia (sensible dependiente de dosis) y 4 presentaron resistencia a fluconazol. *C. glabrata* mostro resistencia a los azoles y sensibilidad a anfotericina y equinocandinas. Mientras que *C. dubliniensis* 1/3 mostro resistencia a fluconazol mientras que 2/3 fueron sensibles al mismo.

Conclusiones: *C. albicans* continúa siendo la especie más frecuentemente aislada en lesiones de cavidad oral en pacientes VIH/SIDA, y notamos un aumento en la frecuencia de cepas resistentes a fluconazol. Semejante a otros estudios observamos aumento de especies no *C albicans*.

VI 102

0962 - CANDIDEMIAS EN UN HOSPITAL DE BUENOS AIRES: DIFERENCIAS EPIDEMIOLÓGICAS, CLÍNICAS Y DE EVOLUCIÓN ENTRE *CANDIDA ALBICANS* Y *CANDIDA SPP.* NO *C. ALBICANS*

BUES, Florencia | HERRERA, Fabián | RELLOSO, Silvia | SÁNCHEZ THOMAS, Diego | TORRES, Diego | CARENA, Alberto | TEMPORITI, Elena | ZERBONI, Sofia | REARTE, Andres | BONVEHI, Pablo

CENTRO DE EDUCACIÓN MÉDICA E INVESTIGACIONES CLÍNICAS (CEMIC) NORBERTO QUIRNO

Introducción y Objetivos: Las infecciones invasivas por *Candida spp*. están asociadas a prolongación de la internación, altas tasas de mortalidad y altos costos hospitalarios. La incidencia y distribución de las especies varía según la región geográfica, así como también su asociación a distintos factores de riesgo. Objetivos:

Describir y comparar características epidemiológicas, clínicas y de evolución de candidemias por *C. albicans* (CA) y *Candida spp*. no *C. albicans* (CNA) en pacientes hospitalizados.

Materiales y Métodos: Estudio de cohorte retrospectivo. Se incluyeron pacientes adultos con aislamientos de *Candida spp*. en hemocultivos, entre enero de 2007 y diciembre de 2017. Se analizaron características clínicas, microbiológicas y de evolución a 30 días. Se utilizó estadística descriptiva, test de Chi cuadrado para variables categóricas y regresión logística binomial para identificar factores de riesgo de mortalidad.

Resultados: Se incluyeron 60 episodios de candidemias, 61.7% por CNA (*C. parapsilosis* 51.4%, *C. tropicalis* 21.6%, *C. glabrata* 21.6%, *C. guilliermondii* 2.7%, y *Candida spp*. no identificadas 2.7%). La mediana de edad fue de 66 años. La mediana desde el ingreso hospitalario y el episodio fue de 17 días (p25-75: 6-28.75). Los factores asociados más frecuentes fueron: uso reciente de antibióticos (88.3%), catéter venoso central (76.7%), y corticoides (45.8%); neoplasias (45%), cirugía abdominal (36.7%), diabetes (30%) y nutrición parenteral (21.7%), sin diferencia entre los grupos. La presencia de tumor sólido, internación previa en terapia intensiva y bacteriemia fueron más frecuente en candidemias por CA (43.5% vs 18.9%, p=0.04; 69.6% vs 35%, p=0.009; y 39% vs 16.2%, p=0.04). Por su parte, *C. parapsilosis* fue más frecuente en pacientes con neoplasias hematológicas (42% vs 8.7%, p=0.02) y neutropenia, aunque esta última sin significancia estadística (26.3% vs 4.3, p=0.13). Las candidemias de brecha ocurrieron en todos los casos por CNA. La mediana entre la toma de cultivos y el inicio de tratamiento fue de 2 días (p25-75:1-3). El tratamiento fue dirigido en 82% de los casos, y los antifúngicos más utilizados fueron fluconazol (50%) y equinocandinas (40%). La presencia de shock séptico y la mortalidad a 30 días entre candidemias por CA y CNA fueron semejantes: 47.8% vs 27%, p=0.10 y 56.5% vs 46%, p=0.43, respectivamente. En el análisis multivariado, los factores de riesgo de mortalidad a 30 días fueron score de Charlson >3 (OR 13.2, IC 1.3-138, p=0.031) y shock séptico (OR, 42.1 IC 4.6-382, p=0.001).

Conclusiones: Las candidemias fueron en su mayoría por CNA. Un alto porcentaje se asoció a factores de riesgo, con algunas diferencias entre los grupos. La evolución fue similar, con una mortalidad elevada, relacionada a mayor comorbilidad y presencia de shock séptico. Reconocer los factores más frecuentemente asociados a candidemias, permitiría identificar a poblaciones de riesgo e iniciar tratamiento de manera precoz, para poder evitar la alta mortalidad de estas infecciones.

VI 103

0973 - EPIDEMIOLOGÍA DE LAS CANDIDEMIAS EN UN HOSPITAL PRIVADO TERCIARIO DE LA CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES: DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES Y SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

FORASTIERO, Agustina [1] | CORDOBA, Susana[2] | AGORIO, Iris[1]

HOSPITAL BRITÁNICO [1]; DEPARTAMENTO MICOLOGÍA, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS "DR. C. G. MALBRÁN", ANLIS [2]

Introducción y Objetivos: La candidiasis invasora es la micosis oportunista de mayor incidencia en todo el mundo, afecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos u hospitalizados con serias patologías de base. La candidemia es su presentación más habitual, no obstante, en más de un 30% los hemocultivos suelen ser negativos, y está asociada con una alta morbimortalidad. La distribución de especies varía según el área geográfica, las características de los pacientes y los procedimientos habituales realizados en cada institución. OBJETIVO: Conocer la epidemiología y la sensibilidad de las candidemias de un hospital privado terciario de Buenos Aires en un período de 4 años.

Materiales y Métodos: Estudio retrospectivo llevado a cabo en el Hospital Británico de Bs. As, entre el 1/1/15 y el 31/12/18. Durante este período se recopilaron y analizaron los datos demográficos de los pacientes y los datos microbiológicos de todos los aislado de *Candida* spp. recuperados de hemocultivos (HC), retrocultivos (RT) y punta de catéter (PC), mediante el software WHONET 5.6-2019. Las muestras de sangre (HC y RT) fueron inoculadas en botellas Aerobic PLUS (BD) e incubadas en el equipo Bactec FX (BD), mientras que las PC fueron procesadas según el protocolo bacteriológico estándar. La identificación se realizó con el equipo Phoenix (BD) y la sensibilidad fue determinada a través de los métodos, epsilométrico o Sensititre Yeast One, según disponibilidad. Se utilizaron los puntos de corte del CLSI y se enviaron al Centro de Referencia los aislados con valores de CIM poco habituales para su confirmación.

Resultados: Se recuperaron 206 aislados de *Candida* spp. de 103 pacientes. Se estudiaron 120 episodios de candidemia (103 únicos, 10 mixtos; 7 pacientes con más de un episodio) de los cuales 18 estuvieron asociados a catéter. El 63% de los pacientes fueron hombres, siendo las patologías de base más frecuentes (%) tumores sólidos (16,3), trasplantes de órgano sólido (11,5) y enfermedades oncohematológicas (9,6). El 60% de las candidemias se produjeron en pacientes de entre 51 y 80 años, y fueron más frecuentes en los internados en UCI (60%). El % de sobrevida a los 30 días fue 65. La distribución de especies fue (%): 37 *C. parapsilosis*, 34 *C. albicans*, 10 *C. tropicalis*, 10 *C. glabrata*, 5 *C. krusei* y 4% otras especies. A excepción de 1 *C. albicans* resistente (R) y 5 *C. parapsilosis* intermedias (I), todos los aislados fueron sensibles (S) a fluconazol (FLC) o Sensible Dosis Dependiente en el caso de *C. glabrata*. La misma *C. albicans* fue (R), mientras que 1 *C.*

krusei fue (I) a VRC, el resto de los aislados fueron (S). Todos los aislados fueron (S) a anidulafungina (ANF) con excepción de 4 *C. parapsilosis* que fueron (I). La CIM a anfoterina B fue <= 1 mg/L en todos los aislados.

Conclusiones: *C. parapsilosis* fue la especie más frecuente, seguida de *C. albicans*. El mayor número de *C. parapsilosis* podría deberse a la incorporación de los RT y PC en la definición de episodio. *C. parapsilosis* fue la única especie que presentó valores de CIM intermedios a FLC y ANF. La resistencia a los antifúngicos fue un hallazgo excepcional. Conocer la distribución de especies y la sensibilidad permite guiar el tratamiento empírico de las candidemias.

VI 104

0989 - CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND RISK FACTORS FOR MORTALITY IN PATIENTS WITH CANDIDEMIA HOSPITALIZED FROM PONTAL DO PARANAPANEMA, SÃO PAULO, BRAZIL

PREZOUTTO VENÂNCIO, Nathalia | DE CARVALHO FERREIRA, Isabeli | GUELSSI DOS SANTOS, Matheus | DE SOUZA CAPPELLETTI, Gabriella | **SOARES DA SILVA, Edilson** | SOARES DA SILVA, Rosana | BARZAN YABUNAKA, Kelly Cristina | SANTANA RIBEIRO, Patrícia | UMBELINO DA SILVA, Suelen | MARTINS PORTELINHA FILHO, Alexandre | MORIS DE OLIVEIRA, Daniela Vanessa

UNIVERSITY OF WEST PAULISTA

Introduction and objectives: Candidemia is the major problem in hospitals because of its high incidence - 3.9 cases per 1,000 admissions and lethality - 50 to 72%, although the advances observed in the antifungal treatments. We have carried out a retrospective retrospective analysis of cases of the bloodstream infection (BSI) by *CANDIDA* spp. in a tertiary teaching hospital in the Pontal do Paranapanema, west of São Paulo state, with the aim of studying the clinical and epidemiologic aspects of the disease.

Materials and methods: Epidemiological, clinical and therapeutic aspects were collected from an electronic medical record and registered in a standard form for this study.

Results: 23 cases of BSI by *CANDIDA* spp, registered between January 2014 and September 2018, were included in this study. The patient's age varied from 8 days to 90 years, where 64% were adults and 36% kids. The incidence rate was 0,88/1000 admissions. The episodes of candidemia were registered in a major number in at adult intensive care unit (ICU) (61,0%) and newborn ICU (26,0%). thirteen patients (57,0%) died during hospital stay ,the mortality was higher in patients who had more than 60 years (p=0,0003). The main associated comorbidities were: gastrointestinal disease (22,0%), followed by cardiovascular diseases (9,0%). *CANDIDA ALBICANS* was a predominant genus and (83,0%), among non-*CANDIDA ALBICANS*, *CANDIDA TROPICALIS*(9,0%) was more frequent, followed by *CANDIDA PARAPSILOSIS* (4,0%) and *CANDIDA* sp. (4,0%).

Conclusions: The prevalence of candidemia by *CANDIDA ALBICANS* was higher than currently found in the literature. The probability of death tends to increase as the age gets higher, i.e., every year added in age of the patient who has candidemia, the chance of death is 6% higher, besides that, gastrointestinal disease was the comorbidity more prevalent confirming what was found in the literature. This is the first description of the infection in the bloodstream by *CANDIDA* species in the Pontal do Paranapanema, west region of the state of São Paulo, Brazil, and confirms the importance of the invasive *CANDIDA* spp infections in the patients´ evolution, especially when elderly patients and neonates are involved.

CAM - Microbiología agrícola

VI 105

0015 - USO DE 2^3-TERT-BUTYL-4 HYDROXYANISOLE LIBRE Y MICROENCAPSULADO COMO ALTERNATIVA PREVENTIVA PARA CONSERVAR LA CALIDAD DEL MANÍ INDUSTRIA ALMACENADO A LA INTEMPERIE

GARCIA, Daiana | PASSONE, Maria Alejandra | GIRARDI, Natalia | NESCI, Andrea | ETCHEVERRY, Miriam

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO / DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA / FACULTAD DE EXACTAS

Introducción y Objetivos: En este trabajo, se evaluó el efecto del antioxidante de grado alimentario, 2^3-tert-butil-4-hidroxianisol, libre (L-BHA) y microencapsulado (M-BHA) el cual fue aplicado a maní (Arachis hipogaea L.) destinado a industria almacenado en silos tipo australianos. Frecuentemente el volumen de maní

(140 mil tn / año) que ingresa a las plantas procesadoras, supera la capacidad de acopio de las mismas (130 mil tn), por lo que el maní destinado a sub-productos es almacenado a la intemperie.

Materiales y Métodos: La metodología de trabajo consistió en utilizar un total de 1600 kg de maní en caja, distribuidos en 8 silos de tipo australiano y almacenados durante 70 días en el predio de una industria procesadora de maní (Prodeman S.A.) ubicada en General Cabrera, Córdoba, Argentina. Al momento del llenado de los silos se aplicaron de manera homogénea los siguientes tratamientos por duplicado: 10 mM de L-BHA (T1); 5 Mm de L-BHA libre + 5 mM de M-BHA (T2); y 5 mM de L-BHA aplicado en la parte inferior del silo + 5 mM de M-BHA homogeneizado con el maní (T3). Se usaron dos silos sin ningún tratamiento como controles (C). Se realizaron 4 muestreos en los cuales se evaluó: la contaminación fúngica, los niveles de aflatoxinas totales (AFs), los residuos de BHA, los daños en los granos ocasionados por la presencia de insectos y el desarrollo de hongos visibles. Además, se registraron periódicamente los valores de humedad y temperatura, los principales factores ambientales que influyen en el almacenamiento de maní.

Resultados: Todos los tratamientos evaluados inhibieron significativamente ($p < 0,05$) el desarrollo fúngico después de 26 días de aplicación, con reducciones del orden de 40% respecto al control. No obstante, el efecto fungicida no se prolongó en el tiempo. No se detectaron AFs en maní durante los dos primeros muestreos (0 y 26 días). Sin embargo, al final del periodo de almacenamiento, los niveles de AFs aumentaron significativamente ($p < 0,05$) respecto a los muestreos anteriores, alcanzando niveles de 55,08; 89,38; 93,36 y 44,16 ng/g en T1, T2, T3 y control, respectivamente. Se registraron niveles residuales de antioxidante desde el inicio al final del almacenamiento, observándose un pico (200-900 ng / g) a los 26 días.

Conclusiones: Estos resultados demuestran que podría preservarse la calidad del maní destinado a industria adicionando L-BHA como una estrategia alternativa para el control de la contaminación por hongos. No obstante, deberían realizarse aplicaciones mensuales si el maní se almacena bajo la influencia directa del medio ambiente y por un período superior a 30 días.

VI 106

0625 - IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE AISLAMIENTOS PERTENECIENTES A *ESCOVOPSIS* Y *LEUCOAGARICUS*, GÉNEROS DE INTERÉS PARA EL BIOCONTROL DE HORMIGAS CORTADORAS DE HOJAS

BARENGO, Marcela Paola | ALZAGA, Ernesto Emiliano | BICH, Gustavo Ángel | **CASTRILLO, Maria Lorena** | VILLALBA, Laura Lidia | ZAPATA, Pedro Darío

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA"

Introducción y Objetivos: En Misiones, una de las principales plagas que afecta el sector forestal primario son las hormigas cortadoras de hojas. Los hongos del género *Escovopsis* se consideran como posibles agentes de biocontrol ya que son capaces de parasitar a *Leucoagaricus*, principal alimento de estas hormigas. El paso inicial en las estrategias de biocontrol es la correcta identificación de los aislamientos fúngicos. Las regiones ITS1-5,8S-ITS2 del ADN ribosomal se consideran el código de barras universal primario para hongos, permitiendo la comparación filogenética entre especies. El objetivo propuesto del presente trabajo fue identificar molecularmente aislamientos de Escovopsis (HMP1) y Leucoagaricus (135Mig) obtenidos de nidos de hormigas cortadoras de hojas de Misiones.

Materiales y Métodos: Se amplificaron y secuenciaron las regiones ITS1-5,8S-ITS2, empleando los cebadores universales ITS1 e ITS4. Las secuencias obtenidas se editaron y analizaron con el software *Geneious* 8.1.8. Se realizaron análisis de similitud mediante el recurso bioinformático BLASTn (Basic Local Aligment Search Tool for nucleotide) del NCBI (National Center of Biotechnology Information).

Resultados: Para el aislamiento del género *Leucoagaricus* 135Mig, se observó un 79,51% de identidad con *Leucoagaricus gongylophorus*, y para el aislamiento del género *Escovopsis* HMP1, se observó un porcentaje de identidad del 99,56% con *Escovopsis microspora* y *Escovopsis weberi*. Por tanto, se corroboraron los datos moleculares con un análisis morfológico complementario del aislamiento HMP1 y se comprobó la identidad con E. microspora, ya que el aislamiento presentó conidios producidos en cadenas basipetales cortas, con forma ovoide, de 2 ± 0,3 x 1,6 ± 0,3 µm; inicialmente hialinos que se tornan marrones, de pared gruesa y ornamentada, características correspondientes a la especie *E. microspora*.

Conclusiones: Todo este procedimiento permitió identificar al aislamiento 135Mig como *L. gongylophorus* y al aislamiento HMP1 como *E. microspora*.

VI 107

0817 - *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* A506 ESTIMULA EL CRECIMIENTO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP245 EN BIOFILMS MIXTOS.

DÍAZ, Pablo Rafael [1] | VALVERDE, Claudio[2] | CREUS, Cecilia[3] | MARONICHE, Guillermo[4]

FONCYT / FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA [1]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR, DEPARTAMENTO DE C. Y T., UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES [2]; FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA [3]; CONICET / FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA [4]

Introducción y Objetivos: *Azospirillum* y *Pseudomonas* son dos géneros bacterianos muy usados en la industria de los inoculantes biológicos de uso agrícola por sus efectos positivos directos e indirectos sobre el crecimiento de cultivos. Sin embargo, a pesar de que suelen ser inoculados en forma mixta, la interacción entre esos microorganismos ha recibido poca atención. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de diferentes cepas de Pseudomonassobre A. brasilense al crecer en un biofilm mixto sobre medio sólido.

Materiales y Métodos: Se usaron 3 cepas de *A. brasilense* (Sp245, Az19 y Az39) y 5 de *Pseudomona ssp*. (TAR5, ZME4, LSR1, A506 y CHA0). Las cepas de A. brasilense fueron transformadas con el plásmido pME7134mob que expresa una proteína roja fluorescente. Se prepararon suspensiones simples o mixtas (1:1) con10 ^{8} UFC/ml que fueron sembradas en forma de gotas sobre placas de medio Nfb-NO_3- y se incubaron durante 3 días a 28°C. Se obtuvieron fotografías de las macrogotas bajo luz ultra violeta y se estimó el crecimiento de *A. brasilense* midiendo la fluorescencia por densitometría con del programa Image J. Se profundizó el estudio de la interacción e A506-Sp245, a diferentes tiempos de incubación, proporciones de cada bacteria y en distintos medios de cultivos. Además, se analizaron los componentes estructurales del biofilm por tinción con rojo congo (exopolisacáridos y material fibrilar) y GelRed (ADN extracelular).

Resultados: Los resultados revelaron que las pseudomonas LSR1 y A506 estimulan fuertemente el crecimiento de *A. brasilense*, mientras que ZME4 TAR5 y CHA0 presentan un comportamiento opuesto. Al estudiar en profundidad la interacción entre A506 y Sp245, se observó que la relación 1:100 Sp245 : A506 fue la condición en donde se obtuvo mayor intensidad de fluorescencia sobre Nfb-NO_3. Por otro lado, en medio RC solo se observó una estimulación leve cuando Sp245 está en ventaja numérica (10:1 Sp245:A506). Los resultados de fluorescencia fueron corroborados con recuentos de UFC. Sobre medio RC, los resultados indican que existe competencia entre bacterias porque cuando Sp245 se beneficia A506 se perjudica. Además, se pudo ver que el aspecto del biofilm de Sp245 cambia drásticamente en presencia de A506 posiblemente debido al desarrollo de estructuras muy diferentes. La tinción con rojo congo reveló mayor producción de matriz cuando ambas cepas interactúan. Además se detectó mayor cantidad de ADN extracelular en los biofilms mixtos sobre medio RC

Conclusiones: El estudio particular del biofilm mixto de A506 y Sp245 reveló que el crecimiento de Sp245 se ve estimulado de manera directamente proporcional a la concentración de A506 y que los biofilms mixtos de A506 y Sp245 poseen mayores niveles del material extracelular.

VI 108

0709 - IMPACTO DE LA INTENSIFICACIÓN DEL MANEJO AGRÍCOLA SOBRE GRUPOS MICROBIANOS EDÁFICOS EN EL SUDESTE BONAERENSE, ARGENTINA.

GUANGIROLI, Martina[1] | **MARCOS VALLE, Facundo** [1] | CASTELLARI, Claudia[1] | VIDELA, Cecilia[1] | CASANAVE PONTI, Sheila[2]

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNMDP (UNIDAD INTEGRADA BALCARCE, FCA– EEA BALCARCE, INTA) [1]; CONICET [2]

Introducción y Objetivos: La importancia de la composición e interacción de las poblaciones microbianas en el suelo es indiscutible ya que muchas funciones del suelo están controladas por las actividades biogeoquímicas de la microbiota que actúa en la dinámica de nutrientes, estabilidad de agregados, producción de gases efecto invernadero, entre otras. El objetivo del presente trabajo fue estudiar los grupos microbianos edáficos más importantes en un sistema de agricultura continua comparando manejos con diferente grado de intensificación.

Materiales y Métodos: Se trabajó en un ensayo ubicado en la Unidad Integrada Balcarce con una rotación maíz/soja 1ra/trigo en el que se evalúan desde hace varios años dos manejos: tradicional del productor de la zona (MP) e intensificado sustentable (MIS). El MIS combina prácticas productivas como fertilización racional, cultivares de alta potencialidad y estabilidad y cultivo de cobertura mientras que el MP no incluye las prácticas mencionadas. Se realizaron dos muestreos de suelo durante el periodo de barbecho (julio y septiembre de 2018), MIS tenía avena como cultivo de cobertura y MP tenía un barbecho químico tradicional. La carga microbiana se evaluó empleando la técnica de dilución seriada al décimo en tubo y posterior siembra en medios de cultivo específicos para cada grupo microbiano: Bacterias Aerobias Mesófilas Totales (BAMT) en Agar Nutritivo, Actinobacterias en medio Kuster, Hongos Filamentosos y Levaduras en Agar Papa Glucosado, *Pseudomonas fluorescentes* en medio Agar Pseudomonas F y *Rizobios* en Agar Levadura Manitol con Rojo Congo. Los resultados se registraron como unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco (UFC.gss^{-1}). Se determinó el pH por la técnica de medición en agua destilada (relación 1:2,5) y la temperatura del suelo usando un termómetro digital insertado a una profundidad de 10 cm.

Resultados: El pH del suelo fue de 5,19 y 5,30 promedio para MIS y MP, respectivamente. La carga microbiana no presentó diferencias entre los manejos evaluados ($p>0,05$) con recuentos promedio de 6,50 para BAMT; 5,00 para Hongos Filamentosos y Levaduras; 5,34 para Actinobacterias; 5,43 para Pseudomonas y 6,07 Log_10 UFC.gss^{-1} para Rizobios, a pesar de que la temperatura del suelo difirió significativamente ($p<0,05$) entre julio (3,59°C) y septiembre (12,79°C). El grupo de las Pseudomonas asociado a procesos de biocontrol de fitopatógenos y estimulación del desarrollo radicular presentó diferencias significativas en los recuentos entre las fechas de muestreo en ambos manejos agrícolas ($p<0,05$) con valores promedio de 4,75 y 6,12 Log_10 UFC.gss^{-1} para julio y septiembre, respectivamente.

Conclusiones: En síntesis, estos resultados preliminares indican que manejos agrícolas intensificados de manera sustentable no alteran la carga microbiana viable de los principales grupos microbianos edáficos de importancia agronómica en el sudeste bonaerense, aunque son necesarios estudios a largo plazo con inclusión de otras variables microbiológicas más específicas.

VI 109

0729 - FITOTOXICIDAD DE AISLAMIENTOS DE *S. VESICARIUM* OBTENIDOS DE AMBIENTES RURALES Y CULTIVOS DE LA REGIÓN DEL ALTO VALLE DEL RÍO NEGRO

TEMPERINI, Carolina[1] | TUDELA, Marisa Andrea Aluminé[2] | DI MASI, Susana Noemi[3] | **POSE, Graciela Noemi** [4]

ESCUELA DE PRODUCCIÓN, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE. UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO NEGRO. [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) EEA ALTO VALLE/CONICET [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) EEA ALTO VALLE [3]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES/INTECH (CONICET) [4]

Introducción y Objetivos: La enfermedad conocida como "mancha marrón del peral" en Europa ha sido recientemente detectada en el Alto Valle del río Negro. Es causada por el hongo *Stemphylium vesicarium*. Resulta sumamente importante su estudio debido a la elevada capacidad de dispersión del patógeno y a su potencialidad de daño. Afecta tanto frutos como hojas. En estas últimas produce una necrosis venosa en forma de "V", específica de este patógeno, asociada a la producción de dos toxinas hospedador-específicas (THEs) (SV-I y SV-II). El objetivo fue evaluar la fitotoxicidad de extractos crudos de aislamientos de S. vesicarium en hojas de diversas variedades de pera cultivadas en la región (Beurré D'Anjou, Abate Fetel, Williams y Packham´s).

Materiales y Métodos: Se seleccionaron 22 aislamientos, 11 obtenidos de aire y 11 de material vegetal sintomático. Un disco de micelio de 5 mm de diámetro de cada aislamiento se cultivó en 500 ml de medio líquido Richard modificado (KNO_3 10 g/l, KH_2PO_4 5 g/l, $MgSO_4/7H_2O$ 2,5 g/l, $FeCl_3$ 0,02 g/l, glucosa 25 g/l, extracto de levadura 1 g/l) a 27 °C durante 20 días. Los cultivos fueron filtrados. En una pequeña lesión provocada en el anverso de las hojas se depositaron 40 µl de filtrado y se incubaron en cámara húmeda a 25 °C en oscuridad por 48-72 hs. Se determinó el grado de fitotoxicidad según el porcentaje de extensión de la necrosis sobre el área foliar. Hojas de rosa y manzana var. Red Delicious se utilizaron como control negativo.

Resultados: Con respecto a los aislamientos de aire, el 81,8% produjo lesión en hojas de la variedad D´Anjou (88,9% leves y 11,1% moderadas). El 100% de los aislamientos ensayados mostraron fitoxicicidad sobre la variedad Abate Fetel (18,2% leve, 9,1% moderada y 72,7% severa). El 90,9% de los aislamientos ocasionaron lesión en la variedad Williams y sólo el 18,2% en Packham's Triumph (en ambas el 100% de los aislamientos mostraron un grado de fitotoxicidad leve). En relación a los aislamientos de tejido vegetal, todos causaron lesiones en las variedades de pera D' Anjou (90,9% leves y 9,1% moderadas) y en Williams (81,8% leves y 18,2% moderadas). El 81,8% de los aislamientos causaron lesión en las variedades Abate Fetel (66,7% leves y 33,3% moderadas) y Packham's Triumph (100% leves). Ninguno de los aislamientos produjo lesión en plantas no hospedadoras.

Conclusiones: Los resultados obtenidos muestran la capacidad fitotóxica que poseen los aislamientos sobre hojas de pera de todas las variedades ensayadas. Estos resultados también podrían poner de manifiesto la posible producción de toxinas THEs. No se determinó ningún grado de fitotoxicidad en plantas no hospedadoras, demostrando así una especificidad de hospedante. La presencia de aislamientos de S. vesicarium en ambientes agrícolas con capacidad fitotóxica sobre cultivos de la región pone en evidencia la necesidad implementar estrategias de control y prevención para evitar la pérdida económica asociada.

VI 110

0873 - CARACTERIZACIÓN FENO-GENOTÍPICA DE RIZOBIOS SIMBIONTES DE *MEDICAGO SATIVA L.* AISLADOS EN SUELOS DEL CENTRO Y NORTE DE LA PROVINCIA DE SANTA FE

FORNASERO, Laura Viviana[1] | TONIUTTI, María Antonieta[1] | **ZUBER, Nicolás** [2] | CIURLANTI, Tomás Francisco[1] | DEL PAPA, María Florencia[2] | LAGARES, Antonio[2]

FACULTAD DE CIENCIA AGRARIAS-UNL [1]; INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP [2]

Introducción y Objetivos: La alfalfa (*Medicago sativa L.*) es la principal especie forrajera del país y la base de los sistemas de producción de carne y leche. En los últimos años se ha incrementado el área dedicada a cultivos agrícolas y como consecuencia de este avance, se han trasladado los cultivos forrajeros a suelos con menores potenciales productivos. En este contexto, la cualidad de la alfalfa de mantener o aumentar la fertilidad nitrogenada de los suelos, dependerá en gran medida de su capacidad para incorporar nitrógeno de la atmósfera por asociación con rizobios específicos. La caracterización funcional de los rizobios adaptados a condiciones estresantes constituye una de las primeras etapas para la obtención de inoculantes eficientes que permitirán un mejor establecimiento de las leguminosas en las nuevas áreas destinadas a pasturas. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar fenotípica y genotípicamente rizobios simbiontes de *M. sativa* aislados en suelos del centro y norte de la provincia de Santa Fe.

Materiales y Métodos: Se estableció una colección de 55 aislamientos recuperados de suelos de cinco sitios: Esperanza, Sa Pereira y Sarmiento (departamento Las Colonias), Gobernador Crespo (San Justo) y Villa Guillermina (General Obligado). Se analizaron las características fenotípicas culturales y la tolerancia a estreses abióticos que incluyeron pH extremos, salinidad y altas temperaturas. Los aislamientos fueron caracterizados por espectrometría de masas MALDI-TOF (Biotyper, Bruker) y se realizó un análisis de la biodiversidad genética a través de técnicas de huella digital genómica por métodos de PCR (BOX-PCR).

Resultados: La caracterización fenotípica de los simbiontes locales permitió reconocer rizobios de crecimiento rápido que mostraron un desarrollo óptimo en un amplio rango de pH (6 a 11), a temperaturas entre 28 y 37°C, y en concentraciones de 2,0% y 2,5% (p/v) de NaCl. Se hallaron rizobios con capacidad de crecimiento en condiciones extremas de pH 12, a 42°C y en 3,5% (p/v) de NaCl, que sugieren una mayor flexibilidad fisiológica y capacidad de adaptación al ambiente. Los aislamientos fueron genotipificados como Ensifer spp. y los perfiles de amplificación de ADN genómico mostraron diversidad genética entre las poblaciones de rizobios recuperados de suelos de diferentes localidades de la provincia de Santa Fe.

Conclusiones: Los resultados obtenidos permitirán seleccionar aislamientos tolerantes a diferentes tipos de estreses y representativos de la diversidad genética colectada hacia su caracterización simbiótica en la búsqueda y selección de cepas eficientes para la elaboración de inoculantes de *M. sativa*.

VI 111

0791 - MICOBIOTA CULTIVABLE AISLADA DE SUELOS AGRÍCOLAS CON HISTORIAL DE EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS

MAGNOLI, Karen | ALUFFI, Melisa | BENITO, Nicolás | CARRANZA, Cecilia | MAGNOLI, Carina | BARBERIS, Carla

IMICO-CONICET

Introducción y Objetivos: La producción agropecuaria representa el principal sustento económico del país. Esto trae aparejado la aplicación de grandes cantidades de herbicidas, siendo los organoclorados, unos de los más utilizados en Argentina. Los hongos filamentosos se consideran importantes herramientas biotecnológicas para detoxificar y biorremediar dichos efluentes usando como principal fuente de carbono y energía el 2, 4-D y el MCPA. Como objetivo de este trabajo, se propuso aislar la micobiota presente en suelos agrícolas con un extenso historial en fumigaciones con plaguicidas organoclorados.

Materiales y Métodos: Se tomaron 10 muestras, de suelos contaminados con 2, 4-D y MCPA. A partir de 10 g de muestra se realizaron diluciones seriadas y se sembraron en superficie sobre los medios de cultivo: agar Czapeck Dox (CZD) (sin carbono) adicionado con 2,4-D y MCPA (10 mM). Se incluyeron ensayos controles en medio CZD completo sin plaguicida. Las placas se incubaron a 25ºC durante 7 días. Se determinó la diversidad de hongos presentes en el medio de cultivo. La identificación de las diferentes cepas aisladas se realizó mediante la evaluación de caracteres fenotípicos.

Resultados: Todas las muestras de suelo contaminado con estos plaguicidas mostraron desarrollo fúngico. Los recuentos fúngicos totales en medio CZD sin glucosa con el agregado de 10 mM de 2, 4-D variaron entre 2.9 a 3.45 $\log_10$ (UFC/g) con un valor medio de 3.20 ± 0.18 $\log_10$ (UFC/g). Los géneros con mayor frecuencia aislados fueron *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. con recuentos entre 2.70 a 5.06; 2 a 2.30 y entre 2.69 a 3.39 $\log_10$(UFC/g) respectivamente. Por otro lado, se encontró un menor número de cepas pertenecientes a los géneros de *Trichoderma* spp., *Cladosporium* spp. y *Mucor* spp. Estas cepas fueron asiladas solamente en una de las muestras procesadas con un recuento de 3.54, 3 y 2 log-10 (UFC/g) respectivamente. En medio CZD sin glucosa con 10 mM de MCPA (herbicida sumamente parecido al 2, 4-D pero menos tóxico), se observó que los recuentos fúngicos totales en presencia de MCPA variaron entre 4.08 a 5.45 $\log_10$ (UFC/g) con un valor medio de 4.38 ± 0.39 $\log_10$ (UFC/g). Los géneros aislados a partir de este ensayo fueron los mismos que aquellos encontrados en presencia de 2, 4-D. Los recuentos pertenecientes a *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. y *Penicillium* fueron entre 2.6 a 5.06; 2 a 4.18 y entre 3 a 4.40 $\log_10$(UFC/g) respectivamente . Respecto al género *Cladosporium* spp. el recuento fue entre 3 a 4.54 log10(UFC/g); Con

respecto a la comparación del efecto tóxico entre 2, 4-D y MCPA se observó que tanto los recuentos totales como los recuentos por género en presencia de MCPA fueron mayores a aquellos obtenidos en presencia de 2, 4-D.

Conclusiones: Se concluye así, que a partir de las muestras de suelo analizadas se observó que en ellas existe una amplia variabilidad fúngica capaz de crecer y tolerar altas concentraciones de los herbicidas en estudio.

VI 112

0796 - ROL DE LA HEMOGLOBINA TRUNCADA DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP245 EN LA RESPUESTA ADAPTATIVA FRENTE A ESTRÉS SALINO E HIPOXIA

AMENTA, Melina[1] | **MARONICHE, Guillermo** [2] | CREUS, Cecilia[1]

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNMDP (UNIDAD INTEGRADA BALCARCE, FCA– EEA BALCARCE, INTA) [1]; FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS-CONICET, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA [2]

Introducción y Objetivos: *Azospirillum brasilense* es una rizobacteria de vida libre capaz de fijar N y de promover el crecimiento de una amplia variedad de especies vegetales. Las hemoglobinas truncadas (trHb) son pequeñas proteínas que han sido implicadas en el sensado, almacenamiento y/o transferencia de O_2 y en la protección frente a estrés oxidativo y nitrosativo. Previamente hemos identificado en el genoma de A. brasilense Sp245 un gen que codifica para una potencial hemoglobina truncada (ATH) cuya expresión es dependiente de la fuente de Ny se induce a bajas tensiones de O_2 y en condiciones de estrés salino. El objetivo de este trabajo fue investigar la participación de ATH en metabolismo del N de A. brasilense Sp245 y en la respuesta adaptativa de la bacteria frente a estrés salino e hipoxia.

Materiales y Métodos: En primera instancia, se construyeron (i) una mutante isogénica nula del gen globina obtenida por reemplazo génico (ΔATH) y (ii) una sobreexpresante con una copia extra del gen bajo un promotor constitutivo, integrada en el cromosoma mediante el uso de un transposón tn7 (tn7ATH); y posteriormente, se caracterizaron sus respectivos perfiles de crecimiento en medios NFb líquido, sólido y semisólido, suplementado o no con diferentes fuentes de N (amonio, nitrato o glutamato) y en presencia o ausencia de NaCl.

Resultados: Las bacterias no presentaron crecimiento diferencial en condiciones donde la fijación biológica del N se encuentra activa (medios líquidos con glutamato o semisólido sin N), indicando que ATH no participa del proceso. Tampoco se observaron diferencias en medio líquido suplementado con amonio o nitrato; sin embargo, en medio semisólido, la mutante presentó una tendencia a posicionarse en lugares donde la presión parcial de O_2 es mayor. En presencia de NaCl, la sobreexpresante fue significativamente más tolerante a sal que la cepa salvaje en medios con amonio, pero no en medios con nitrato.

Conclusiones: Tomados en conjunto, los resultados sugieren que la ATH es parte, no esencial, de los mecanismos de supervivencia de *A. brasilense* frente a estrés salino e hipoxia.

VI 113

0812 - POTENCIAL ROL DE ADSORBENTES BIOMINERALES EN LOS PROCESOS DE CAPTACIÓN DE GLIFOSATO EN SUELOS

MONGE, Maria Del Pilar [1] | CARRAZA, Cecilia[2] | BARBERIS, Carla[2] | RODRIGUEZ, Marina Celeste[1] | MAGNOLI, Alejandra[2] | MAGNOLI, Carina[2] | CHIACCHIERA, Stella[1]

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO. [1]; DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC) [2]

Introducción y Objetivos: El glifosato (PMG) es un herbicida de amplio espectro, no selectivo, muy utilizado para eliminar malezas indeseables en ambientes agrícolas (principalmente en cultivares de soja, maíz, girasol y trigo) y ambientes no agrícolas. Los fenómenos de adsorción y degradación cumplen un rol muy importante en la naturaleza para reducir el contenido de xenobióticos en el ambiente. El crecimiento de hongos sobre las arcillas del suelo, puede afectar las capacidades adsortivas de estos minerales, y a su vez, la presencia de éstos últimos puede afectar la morfología fúngica y la actividad fisiológica de los microorganismos. Resulta de interés dilucidar los procesos predominantes que ocurren sobre adsorbentes biominerales como modelos simplificados de los procesos naturales y como bioadsorbentes potencialmente utilizables para procesos de remediación y/o prevención. El objetivo de este trabajo fue producir pellet de *Aspergillus oryzae* sobre bentonitas y evaluar su capacidad de adsorción de glifosato en suelos con actividad agrícola.

Materiales y Métodos: Para ello, se utilizó una bentonita proveniente de Mendoza y una cepa de *A. oryzae* aislada de suelos agrícolas, previamente caracterizada. El adsorbente biomineral se obtuvo mediante el crecimiento de la cepa de interés en presencia de bentonita. Las cepas de A. oryzae fueron inoculadas en MEA durante 14 días, para realizar las suspensiones con una concentración de esporas definida. Las mismas se desarrollaron en medio de cultivo líquido a 25°C a 160 rpm. La bentonita se añadió a dicho medio también respetando concentraciones definida. Durante la fase estacionaria de los hongos, el biomineral se separo por filtración, se lavaran con agua y luego fueron liofilizadas. Se realizaron las isotermas de adsorción de PMG sobre bentonita y el pellet. Se realizaron las correspondientes soluciones de trabajo cubriendo un rango apropiado de concentraciones del adsorbente. Cada una de las diluciones se preparó en agua a pH 6 con el agregado de una alícuota de cloruro de sodio como control de la fuerza iónica. Dos réplicas de cada solución se pusieron en contacto con una suspensión de bentonita y pellet estabilizada al pH de medida en tubos tapados y se dejaron 24h con agitación orbital a temperatura ambiente. Al cabo del periodo de incubación las distintas soluciones se centrifugaron. En el sobrenadante se analizó la concentración del adsorbato (PMG) remanente mediante HPLC con detección UV-visible previa derivatización de las muestras. En cada ensayo se incluyeron controles de adsorbente.

Resultados: La cantidad adsorbida se calculó midiendo la depleción del adsorbato en la solución después de la adsorción. Se observan isotermas tipo Langmuir (L) con un punto de inflexión que indicaría la presencia de más de un sitio de absorción sobre el adsorbente, el biomineral presenta mayor afinidad por PMG que la bentonita.

Conclusiones: Los resultados demuestran que los biominerales pueden modificar sensiblemente la capacidad de la bentonita presente en los suelos para retener el PMG emitido al medio ambiente.

VI 114

0206 - EXPRESIÓN DE GENES DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS DEL BIOCONTROLADOR *TRICHODERMA HARZIANUM* ITEM 3636 EN LA INTERACCIÓN CON *FUSARIUM SOLANI* MR 313.

ERAZO, Jessica Gabriela [1] | VENISSE, Jean Stephane[2] | PALACIOS, Sofia[1] | PASTOR, Nicolas[1] | GIORDANO, Francisco[1] | TORRES, Adriana[1] | ROVERA, Marisa[1] | REYNOSO, Maria[1]

IMICO-CONICET [1]; PIAF-UMR547 UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE [2]

Introducción y Objetivos: La podredumbre parda de la raíz del maní (PPRM) es una enfermedad causada por *Fusarium solani* que se ha presentado en distintas regiones productoras de la provincia de Córdoba (Argentina). Hemos demostrado en trabajos anteriores que *T. harzianum* ITEM 3636 es capaz de controlar la PPRM tanto en invernadero como a campo. Se conoce que los miembros del género *Trichoderma* utilizan varios mecanismos que permiten controlar a los fitopatógenos, como por ejemplo el micoparasitismo. Durante este proceso *Trichoderma* secreta un conjunto de enzimas hidrolíticas que le permiten degradar la pared celular del agente patógeno, principalmente proteasas, glucanasas, N-acetilglucosaminidasas (NAGasas) y quitinasas. Para conocer si este mecanismo participa en el antagonismo de *T. harzianum* ITEM 3636 frente a *F. solani* MR 313 nuestro objetivo fue medir los niveles de expresión relativa de genes que codifican para proteasas (prb1), glucanasas (b13glu), quitinasas (chit42 y chit33) y NAGasas (exc1 y exc2) de *T. harzianum*ITEM 3636 y las correspondientes actividades enzimáticas.

Materiales y Métodos: Para ello, a partir de cultivos de la cepa ITEM 3636 crecidos en medio mínimo líquido adicionados con pared celular de *F. solani*(tratado) y medio mínimo adicionado con glucosa (control) se midieron las actividades enzimáticas quitinasa, ß,1-3 glucanasa y NAGasa. Además, se extrajo el RNA de todas las muestras para el análisis de expresión de los genes correspondientes mediante RT-qPCR. Las mediciones se realizaron cada 24h durante 5 días.

Resultados: Los genes con mayor nivel de expresión fueron prb1 y chit33. La mayor expresión de chit33 se detectó a 48h de incubación, mientras que, el mayor valor de actividad quitinasa se detectó a las 120h (0,0318 U. ml $^{-1}$), sugiriendo una posible regulación postranscripcional para este gen. Además, se encontró que los niveles de expresión del gen prb1 fueron elevados en las primeras 24 h revelando un importante rol como desestabilizante de la matriz proteica de *F. solani* durante la primera etapa de la interacción. No se encontró correlación entre la expresión de los genes exc1 y exc2 con la fuerte actividad NAGasa detectada (0,14028 U.ml^{-1}). Los altos niveles de NAGasa corresponderían a una síntesis y almacenamiento previo de NAGasa dentro del periplasma de la cepa ITEM3636 sumado a la síntesis enzimática producida por la expresión de ambos genes cuando fueron inducidos por pared celular de *F. solani*. Respecto al gen b13glu, se observó correlación entre los niveles de transcriptos detectados y la actividad glucanasa ya que a las 72h se pudo observar la mayor sobreexpresión del gen, coincidiendo con la mayor actividad glucanasa del ensayo (0,05509 U.ml^{-1}).

Conclusiones: En conclusión, se podría decir que las principales enzimas que *T. harzianum* ITEM 3636 excreta al medio extracelular cuando interactúa con *F. solani* MR313 son, inicialmente, NAGasas, ß,1-3 glucanasas y quitinasas, las que generarían un potencial hidrolítico que le permite al biocontrolador reducir la viabilidad del fitopatógeno.

VI 115

0821 - ANÁLISIS DEL GENOTIPO Y QUIMIOTIPO DE CEPAS DE *FUSARIUM CEREALIS* AISLADAS DE TRIGO CANDEAL

DEL CANTO, Agostina | **TORRES, Adriana** | PALACIOS, Sofia A.

DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC)

Introducción y Objetivos: El trigo es un cereal ampliamente distribuido y utilizado alrededor del mundo. Las especies de mayor consumo humano son *Triticum aestivum ssp. aestivum* (trigo harinero o trigo pan) usado en la industria de la panificación y *Triticum turgidum ssp. durum* (trigo fideo, duro o candeal) utilizado para la elaboración de las pastas alimenticias. De las enfermedades fúngicas que pueden afectar a este cereal, la Fusariosis de la espiga (FET) es una de las más importantes, debido a que causa disminución en el rendimiento de la cosecha, disminución en la calidad del grano, modificación de las propiedades del grano para la molienda y el procesamiento, y contaminación con micotoxinas. Los agentes causales de la FET más frecuentes se incluyen en el complejo de especies *Fusarium graminearum*. Sin embargo, últimamente, Fusarium cerealis ha sido aislado de granos de trigo y cebada con síntomas de la Fusariosis en distintas partes del mundo, incluso de granos de trigo candeal de la mayor zona de producción de Argentina. Dicho patógeno es productor de nivalenol (NIV), micotoxina que supone un riesgo para la salud humana y animal. El objetivo del presente trabajo fue analizar la capacidad (tanto a nivel molecular como *in vitro*) de producir NIV de 16 cepas de F. cerealis aisladas de granos de trigo candeal con sintomatología de la FET.

Materiales y Métodos: La detección del genotipo de producción de tricotecenos se llevó a cabo a través de una PCR múltiple siguiendo la metodología de Quarta et al. (2006). Para determinar la producción de la micotoxina, las cepas fueron inoculadas en arroz y trigo candeal. Luego del período de incubación ambos sustratos fueron molidos y posteriormente se llevó a cabo la extracción de la toxina, siguiendo la metodología descrita por Cooney et al. (2001). El análisis de NIV se realizó por HPLC-UV.

Resultados: Todas las cepas de *F. cerealis* analizadas presentaron genotipo NIV, mientras que la producción de la toxina *in vitro* fue variable. El 87,5% de las cepas analizadas fueron capaces de producir NIV en arroz, mientras que el 43,75% de ellas produjeron la toxina en trigo. En arroz, la producción de nivalenol osciló entre 203,91 y 697,81 µ;g/kg. Por el contrario, los niveles detectados en trigo fueron mayores oscilando entre 448,38 y 3143,64 µ;g/kg. Cabe destacar que las cepas (n= 6) que produjeron la toxina en ambos sustratos presentaron una mayor producción de NIV cuando crecieron sobre trigo. Estos resultados indican que *F. cerealis* es capaz de producir nivalenol en altas concentraciones en granos de trigo candeal y que este sustrato favorecería su producción.

Conclusiones: La posible producción de esta toxina en los granos implica un riesgo para la salud animal y humana teniendo en cuenta que su toxicidad es mayor a la del deoxinivalenol y que no existe hasta el momento una legislación a nivel mundial que regule su presencia en cereales.

VI 116

0876 - DETECCIÓN DE FAGOS DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS EN SUELOS DE CULTIVOS HORTÍCOLAS EN LA ZONA DE INFLUENCIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

RICCARDO, Laura | PICCARDO, Victoria | REYNOSO, Cristian | ORTIZ, Xoana | COSTA, Julia | **OJEDA, Pablo Alejandro** | BARRIOS, Hebe

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

Introducción y Objetivos: Las bacterias fitopatógenas causan grandes pérdidas económicas a las producciones hortícolas. Esto se debe fundamentalmente a que estos microorganismos pueden producir diversas enfermedades graves. Causan manchas foliares, tizones, podredumbres húmedas en frutos, obstrucción de los haces vasculares, entre otras patologías. El empleo de agroquímicos, como son los antibióticos, ha traído efectos indeseables como contaminación, intoxicación y la selección de microorganismos resistentes. Esto hace necesario el desarrollo de estrategias alternativas con menores costos ambientales y menor impacto para la salud humana. Los virus bacteriófagos son una alternativa a considerar dada su capacidad lítica a este grupo de microorganismos. El objetivo del presente trabajo fue detectar y obtener fagos para las bacterias fitopatógenas que producen algunas enfermedades en los cultivos hortícolas de las zonas aledañas a la Universidad Nacional de Luján.

Materiales y Métodos: Se tomaron muestras de distintas especies hortícolas como brócoli, repollo, lechuga, frutilla y tomatecon sintomatologías típicas de bacteriosis como así también de suelo circundante a las plantas afectadas. Se evaluó la capacidad fitopatógena de las bacterias aisladas y se las identificó en base a pruebas bioquímicas. Desde el supuesto de que las bacterias aisladas se encontraran en el mismo ambiente que sus

bacteriófagos específicos infectivos, se llevó a cabo la detección de bacteriófagos que produjeran la lisis de las cepas obtenidas. Para esto se procesaron cada muestra de suelo, las mismas fueron puestas en frascos por triplicado y cubiertas con el Buffer de fagos de solución TrisHCl (pH 7,5) 10 mM; NaCl 68,5 mM; MgSO4 10mM; y CaCl2 (1 a 10 mM) 2mM. Se centrifugó el sobrenadante y posteriormente se le agregó cloroformo. Luego se extrajo una alícuota de 10 µl correspondiente a cada suelo, la que fue plaqueada en Agar Nutritivo junto a cada aislamiento por separado, la misma fue puesta a incubar a 30°C en estufa durante 24-48hs.

Resultados: Como resultado se obtuvieron 8 aislamientos correspondientes a bacterias fitopatógenas los cuales fueron identificados dentro de los géneros Xanthomonas, Pseudomonas y Clavibacter. Se obtuvieron 4 fagos que lisaron 3 de los 8 aislamientos obtenidos.

Conclusiones: Esto nos permite concluir la existencia de fagos en los suelos hortícolas que se podrían aislar y ser sometidos a futuras evaluaciones con fines de generar alternativas de control biológico para estas patologías contribuyendo al manejo integrado de plagas (MIP).

VI 117

0943 - EVALUACIÓN IN VITRO PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD SOLUBILIZADORA DE FOSFORO Y FIJADORA DE NITRÓGENO DE LOS AISLAMIENTOS DE ACTINOBACTERIAS DEL COMPOST DE RAQUIS DE PALMA DE ACEITE (*ELAEIS GUINEENSIS*)

CARRILLO, Ana | ORTIZ, Orieta | DAZA, Luisa | BARRAZA, Yenny | QUIROZ, Jaime

SENA CENTRO BIOTECNOLÓGICO DEL CARIBE

Introducción y Objetivos: Colombia es el quinto país productor de aceite crudo de palma en el mundo, con una producción acumulada de 753.000 t en 2010 (Fedepalma, 2011). En el departamento del Cesar, la hacienda las flores, del grupo empresarial Oleoflores, es la pionera en esta industria. El proceso de elaboración de aceite de palma deja como principales subproductos los racimos vacíos (RV), la fibra de fruto (FF) y los efluentes. Los racimos de fruto fresco (RFF), provenientes del campo, son procesados en la planta de beneficio, donde se esterilizan y se desfrutan para extraer el aceite, dejando así 20 kg de RV y 14 kg de FF por cada 100 kg de RFF que ingresan al proceso. Existen diferentes métodos para seleccionar microorganismos del suelo solubilizadores de compuestos de fósforo insoluble, aunque se sabe que algunos microorganismos que solubilizan fósforo en condiciones de laboratorio no son capaces de hacerlo en el suelo, particularmente en los de pH alcalinos. Algunos actinomicetos rizosféricos han sido definidos por su habilidad para formar simbiosis con las raíces de ciertas plantas, generar nódulos y fijar N2, como es el caso de Frankia Ésta simbiosis ayuda a la planta a obtener su propio nitrógeno. Consecuentemente, las plantas y sus simbiontes se han difundido en una variedad notable de lugares y climas. El objetivo de esta investigación, es desarrollar un protocolo para la evaluación de la capacidad solubilizadora de fosforo y de fijación de nitrógeno de actinomicetos autóctonos del compostaje del raquis en la hacienda las flores.

Materiales y Métodos: Para la obtención de los microrganismos autóctonos se realizó de manera previa una caracterización de las pilas de compostaje de raquis en las etapas (termofilicas y de maduración) de la hacienda las flores ubicada en N 10°3´ W O73°14´; 131 msnm, Clima tropical. Se aislaron 9 cepas de actinomicetos celulíticos, mediante un aislamiento primario en agar cZapek-Dox y agar avena más nistatina por la técnica de diluciones seriadas dilución hasta 10-8 los cultivos fueron incubados a 37°C por diez días, luego del tiempo de incubación se realizó una segunda siembra en agar cZapec dox mas nistatina para purificar las cepas de actinomicetos presentes en el aislamiento primario. La capacidad de fijación de nitrógeno por parte de los actinomicetos se realizó partiendo de una suspensión liquida de microorganismos elaborada a base de raquis de palma de cada una de las cepas aisladas. Para la solubilización de fosforo, se utilizó un medio Solido a base de raquis de palma, se evaluó la formación de halos de solubilización medidos en mm en medio Picovskaya a 37ºc, expresado en términos de zonas de aclaración

Resultados: 1 Se elaboró un medio de cultivo natural a base de raquis de palma de aceite, en estado sólido y líquido, en un Ph de 8,2 una concentración de raquis al 5%. 2 Se sembró en medio Ashby las cepas M2, M8, M10, MB, M1DIF y obtuvieron actividad nitrogenasa y las cepas M3, M2, MB presentaron actividad solubilizadora de fosforo en médio Pikovskaya. 3 Se evidenció la capacidad de los actinomicetos aislados del compost de raquis para solubilizar fosforo y fijar nitrógeno.

Conclusiones: Los actinomicetos aislados del compost de raquis son pontenciales biofertilizantes en los cultivos de palma de aceite, el proceso de identificación se realizó mediante la caracterización macroscópica donde se tuvo en cuenta textura, coloración del micelio aéreo y del sustrato, forma y tamaño de la colonia y producción de pigmentos, en cuanto a la identificación microscópica se realizó mediante la técnica de microcultivo.

VI 118

1014 - DIVERSIDAD DE HONGOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO ASOCIADA A CAMBIOS EN EL MANEJO DE CULTIVOS

FERNÁNDEZ GNECCO, Gabriela Amancay[1] | BARBIERI, Pablo[2] | **CONSOLO, Veronica Fabiana** [3] | COVACEVICH, Fernanda[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (CONICET)/FIBA/EEA-INTA BALCARCE [1]; UI ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA BALCARCE INTA/CONICET [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGIA INBIOTEC-CONICET/FIBA [3]

Introducción y Objetivos: La actividad agrícola intensiva actual, está ocasionando deterioros en el contenido de materia orgánica (MO) del suelo (considerada reservorio de nutrientes). Además en general no considera la reposición de nutrientes al suelo ni sus efectos sobre las poblaciones microbianas que cumplen roles en el ciclado de nutrientes y MO. En los últimos años se están evaluando alternativas a los monocultivos tales como la inclusión de rotaciones y/o incorporación de cultivos de cobertura (CC) orientados a disminuir el tiempo en que el suelo se encuentra desnudo así como a aumentar la incorporación de residuos vegetales (MO). Nuestro objetivo fue evaluar, en un ensayo de larga duración instalado en la EEA INTA, Balcarce, el impacto en la diversidad genética por la inclusión de CC, reposición de nutrientes y rotaciones en sistemas basados en monocultivo de soja, sobre las poblaciones de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) y *Trichoderma* (*T*), ambos grupos de hongos edáficos con roles en el ciclado del C y P del sistema y reconocidos promotores de crecimiento vegetal

Materiales y Métodos: En tres momentos del año y en cada condición analizada se colectaron muestras de suelo y se realizó la extracción del ADN genómico utilizando el kit MoBio Power Soil DNA isolation (de acuerdo a las instrucciones del fabricante). La diversidad genética de los HMA y *T* fue caracterizada mediante el análisis de patrones moleculares generados a través de SSCP (Polimorfismo conformacional de cadena), previa amplificación por PCR utilizando primers específicos para cada grupo fúngico

Resultados: Los sistemas con inclusión de CC y rotaciones presentaron patrones de bandas de HMA y de *T* que no estuvieron presentes en el monocultivo. Los mayores H´ para HMA fueron obtenidos, en general (salvo para muestreo de otoño=madurez de los cultivos) en los sistemas con CC y/o rotaciones, mientras que para *T* las diferencias fueron menores con una tendencia a mayor de H' en sistemas con inclusión de rotaciones. Mientras que los H´ para HMA aumentaron desde el invierno hacia el verano, alcanzándose en algunos tratamientos los máximos índices en otoño, mientras que el máximo para *T* se obtuvo en invierno (suelo desnudo). La secuenciación de 15 bandas del gel SSCP mostraron más del 90% similitud con el género *Glomus* (más representativo entre los HMA) confirmando la identidad genética de HMA nativos del área de estudio y corroborando la confiabilidad de la técnica.

Conclusiones: Estos resultados evidencian que sistemas alternativos al monocultivo de soja, tales como la incorporación de CC y principalmente la rotación de cultivos, contribuyen a un aumento de la diversidad de HMA y *T* superior a los determinados en sistemas de monocultivo intensivo.

CAM - Microbiología ambiental

VI 119

0019 - DESARROLLO DE UNA COMUNIDAD BACTERIANA EN EL AGUA DE RECUPERACIÓN DE HIDROCARBUROS CON GOMA XANTANO

EICHEL, Marcos | BAZTAN, Maite | GUTIERREZ, Maximiliano | **PUCCI, Graciela**

CEIMA

Introducción y Objetivos: En la industria extractiva petrolera, el agua de formación puede utilizarse para la disolución de polímeros en la recuperación terciaria del hidrocarburo. Los polímeros como el xantano juegan un papel vital en la recuperación de la industria petrolera. Sin embargo, a veces se ha observado una disminución en la viscosidad del xantano durante estos procesos. El objetivo del presente estudio fue investigar la posibilidad de que la disminución observada en la viscosidad de la goma xantana pueda ser causada por la actividad bacteriana en muestras de aguas en la Cuenca del Golfo San Jorge, Argentina.

Materiales y Métodos: Se trabajó con una muestra de agua cruda de recuperación secundaria que provenía de un yacimiento cercano a la ciudad de Comodoro Rivadavia. La muestra fueron cultivadas durante 13 días a 28ºC en medio líquido de la siguiente manera: 1 ml de agua se añadió a 9 ml de medio de cultivo ($g.L^{-1}$: NaCl 5g, K2PO4 1g, KPO4H2 1g, (NH4)2 SO4 1g, MgSO4 0.2g, KNO3 3g, extracto de levadura 0,02g, goma xantano 0,1g), realizándose periódicamente medición de la viscosidad, absorción a 600 nm y medición en el FTIR al inicio y final del experimento. Se aislaron 14 cepas que se identificaron (FAMEs) y a las cuales se las cultivó por mismo medio para seguirlas periódicamente de la misma forma que la comunidad.

Resultados: El agua de recuperación secundaria, presentó un recuento bacteriano de 2,3 x 10^8 UFC/mL, en el medio de cultivo sólido con xantano como única fuente de carbono y energía. El cultivo de la muestra, presentó un aumento de cinco veces su valor inicial en la densidad óptica, acompañando de un descenso notable de la viscosidad a las 48 hs, (30 a 2 cp). El análisis espectroscópico infrarrojo muestra diferencias significativas (p >0,5) en las bandas 1200 a 990 cm^{-1} y desaparición de bandas en la región de 3400 a 2400 cm^{-1}, marcador de la estructura de la molécula de xantano. La extracción y análisis de ácidos grasos de la comunidades evidenció una comunidad bacteriana mixta formada por bacterias Gram positivas (ácidos grasos indicadores iso y anteiso) y Gram negativas (representados por los ácidos grasos hidroxilados). La identificación de las bacterias aisladas en las placas de medio TSA dio como resultado la presencia de *Arthrobacter aurescens*, dos cepas de *Microbacterium liquefaciens*, cuatro de *Pseudomonas aeruginosa* y *Stenotrophomonas sp*, dos *Ochrobactrum anthropi*, *Bacillus sp* y *Roseomonas fauriae* y dos bacterias que el sistema no pudo identificar. Ninguna de esas bacterias aisladas y cultivadas posteriormente en el medio mineral-xantano, mostró un aumento de la densidad óptica ni capacidad para disminuir la viscosidad del medio de cultivo.

Conclusiones: En el agua de recuperación secundaria se detectó una comunidad bacteriana que es capaz de utilizar a la goma xantano, pero las bacterias aisladas solas no mostraron crecimiento o modificación del xantano en los tiempos y condiciones utilizadas.

VI 120

0355 - BIOCONTROL DE *TRICHODERMA* SP EN LA FUNGICULTURA: EVALUACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS PARA SU APLICACIÓN

WETH, Cristian E.[1] | BIANCHINOTTI, María Virginia[1] | **CUBITTO, María Amelia** [2]

CENTRO DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES DE LA ZONA SEMIÁRIDA - CERZOS (CONICET/UNIV. NAC. SUR), [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA [2]

Introducción y Objetivos: A partir de desechos agroindustriales es posible cultivar gírgolas (*Pleurotus ostreatus*), hongo de especialidad muy apreciado por el mercado. Sin embargo, la rentabilidad se ve afectada por la incidencia de enfermedades, como la "enfermedad del moho verde", causada por *Trichoderma*spp., que genera importantes pérdidas de producción. El control químico no es aconsejable, además de costoso conlleva el riesgo del desarrollo de resistencias y que los fungicidas pasen al alimento. Una alternativa es el uso de microorganismos antagonistas y/o sus metabolitos. En estudios anteriores, se aislaron cepas bacterianas provenientes del sustrato utilizado para el cultivo, bolsas de cultivo sanas y suelo circundante al invernadero de producción. También se realizaron aislamientos de mohos a partir de bolsas que presentaban los típicos parches verdes de la enfermedad. Los objetivos de este estudio fueron realizar una prospección y selección de agentes de biocontrol e identificar el aislamiento potencial de *Trichoderma* que afectaba los cultivos.

Materiales y Métodos: El moho aislado fue cultivado en Agar Extracto de Malta en oscuridad durante 48 h a 25°C para su caracterización. Posteriormente se lo dejó esporular a temperatura ambiente y se realizaron observaciones por microscopía de fondo claro. En una primera etapa se realizaron cocultivos entre el moho patógeno y 40 cepas bacterianas en medio PDA a 25 °C por 7 días. Se seleccionaron para continuar los estudios aquellas que mostraron inhibición sobre el patógeno y un efecto moderado sobre los hongos de cultivo. A fin de cuantificar el grado de inhibición, se realizaron cocultivos en placa enfrentando un inóculo del moho y en el otro extremo un trazo de un cultivo de 48 h de las cepas bacterianas. Las placas se incubaron a 25°C durante 10 días. Diariamente se realizaron mediciones del área ocupada por el hongo a fin de estimar su grado de avance. Se sembraron controles del moho. La misma experiencia se realizó entre los aislamientos bacterianos y 2 cepas de *P. ostreatus* de producción comercial (P04 y 2212).

Resultados: De acuerdo a su morfología el moho se identificó como *Trichoderma cfr. Viride*. En la primera experiencia se seleccionaron 9 cepas bacterianas (9.1b, 9.3, 13.2, 14.1a, 14.3b0, 14.3b01, 16.1, 16.4 y PsC). Cuando se cuantificó la inhibición, 3 cepas demostraron ser las más activas frente a *Trichoderma*(B 9.1b, B9.3b, PsC) impidiendo que el moho ocupe entre el 50 y 40% de la placa, 2 cepas fueron moderadas (B13.2 y B14.1a.) limitando el crecimiento entre el 25-20 % y las restantes mostraron una inhibición débil (15-10%). En todos los casos la inhibición se mantuvo durante los 10 días. Los controles cubrieron el 100% de la superficie en 7 días. Tanto las cepas más activas como las moderadas afectaron en algún grado el crecimiento de los hongos de cultivo.

Conclusiones: Se aislarán y estudiarán los metabolitos producidos por estas cepas a fin de evaluar su aplicación en la sanitización del sustrato de cultivo de Girgolas.

VI 121

0679 - EVALUACIÓN DEL EXTRACTO CRUDO *DE EUCALYPTUS PULVERULENTA* SOBRE *FUSARIUM* SP.

ORTIZ ALMANZA, Juan Simón | **ECHEVERRY PRIETO, Lena Carolina**

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS

Introducción y Objetivos: Los biopreparados se usan en el manejo sostenible de plagas en la agricultura. El cultivo de papa es esencial en la canasta familiar y las pérdidas por *Fusarium* sp. afecta la economía del sector agrícola. Por consiguiente, el objeto del presente trabajo fue evaluar la acción antifúngica del macerado de hojas del *Eucalyptus pulverulenta* variedad Baby blue sobre una cepa nativa de Fusarium sp. Este eucalipto no ha sido reportado como bioplagicida porque su uso tradicional es como follaje.

Materiales y Métodos: Se tomaron muestras de papas (*Solanum tuberosum*) con fusariosis y se sembraron en agar PDA, se incubaron a 25°C por 8 días. La identificación se hizo macroscópica y microscópicamente de las colonias. E. pulverulenta se recolectó en una plaza mayorista ubicada en Bogotá D.C., Colombia. Después de un proceso de secado bajo sombra las hojas se trituraron y maceraron en 720 mL de metanol por una semana con agitación ocasional. Se filtró el macerado y el sobrenadante se colocó en un rotoevaporador a 70°C. El extracto se conservó en refrigeración para su posterior evaluación. Se evaluaron tres tratamientos (T1, T2 Y T3) con medio envenenado, adicionando al agar atemperado el volumen de extracto crudo a evaluar (T1 y T2 tenían 0,2 mL y 0,5 mL del extracto crudo y T3 1 mL del extracto en diluido 10^-1). Se empleado PDA. El control se hizo en PDA no envenenado. A los 8 días de incubación a 25°C se midió el radio de crecimiento de los tratamientos y el control, los ensayos se hicieron por triplicado. Para valorar la incidencia del extracto en la formación de biomasa se realizaron fermentaciones líquidas sumergidas en Erlenmeyer de 50 mL con 20 mL de caldo PDA. Se realizaron 5 tratamientos así: de la dilución 10^-1 se adiciono a las pruebas Tf1:2 mL, Tf2: 1 mL y Tf3: 0,1 mL, para Tf4: 0,5 mL y Tf5: 0,2 mL del extracto crudo respectivamente. Se mantuvieron a 135 rpm por 8 días y se estimó el peso seco de los micelios luego d un proceso de filtración en papel filtro y someter la muestra a 120°C por una hora. El control solo contenía caldo PDA, este se preparo al 50% de lo indicado para el agar PDA. El análisis estadístico se hizo en el programa SPSS versión 10, con α=0.05. La hipótesis alterna (Ha) era que el extracto crudo de *E. pulverulenta* puede inhibir el crecimiento de *Fusarium* sp. igual o mayor a un 50% frente al control.

Resultados: Se aisló e identificó el hongo *Fusarium* sp. El porcentaje de inhibición del crecimiento radial de Fusarium] sp. fue de 100% para T2, en el caso del T1 y T3 la inhibición fue de 90% y 55% respectivamente. Con el peso seco de la muestra se obtuvo un 51% de inhibición en Tf5, 31% para Tf4 y en las pruebas Tf1, Tf2 y Tf3 no supero 10% la inhibición. A mayor cantidad del extracto crudo la inhibición aumenta y la Ha solo se cumple para T1, T2 y Tf5. Las evaluaciones con las diluciones del extracto no tuvieron una inhibición significativa.

Conclusiones: *E. pulverulenta* es un promisorio biocontrolador contra *Fusarium* sp. Es necesario probar otros solventes para establecer el nivel de inhibición e identificar los metabolitos que realizan dicho proceso. Este es un primer trabajo que evalúa el eucalipto variedad Baby blue como biopreparado para control de plagas de interés agrícola. Se debe continuar investigando estas propiedades para sustituir pesticidas químicos y poder emplearlo como herramienta amigable con el medio ambiente para controlar y/o eliminar pestes.

VI 122

0725 - DISMINUCIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL DE LA INDUSTRIA LÁCTEA MEDIANTE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE LEVADURAS Y ETANOL A PARTIR DE LACTOSUERO

MURCIA, Marcos Germán | CALAFAT, Mario | GIGLI, Isabel

FACULTAD DE AGRONOMÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Introducción y Objetivos: El lactosuero es el principal remanente líquido de la fabricación del queso, y en su composición además de agua y otras sustancias sólidas, contiene lactosa entre un 4,5 y 5%. Al tratarlo como desecho y arrojarlo al suelo sin tratamiento, situación que se sostiene en muchas pequeñas fábricas lácteas argentinas, se contamina suelos y napas con una alta carga orgánica. Algunas levaduras usan este azúcar como fuente de carbono y energía para aumentar su biomasa en aerobiosis, disminuyendo la demanda química de oxígeno (DQO) del sustrato mientras que en condiciones anaeróbicas producen biomasa y alcohol. El objetivo del trabajo fue evaluar la DQO del lactosuero antes y después de su fermentación con levaduras en condiciones aeróbicas y anaeróbicas.

Materiales y Métodos: Se probaron tres especies de levaduras: *Kluyveromyces marxianus, Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces cerevisiae*. Los cultivos se realizaron en condiciones aeróbicas en Erlenmeyers, con agitación a 150 RPM y una temperatura de 29ºC durante 72 horas. En condiciones anaeróbicas se usaron tubos falcon en estufa a 29 ºC durante 72 horas. El medio consistió en lactosuero enriquecido con (NH4)2SO4 y K2PO4. La proporción de etanol se cuantificó mediante destilación La Demanda Química de Oxígeno (DQO) se determinó con el índice de oxidabilidad o DQO del permanganato KMnO4 (Standard Methods 20th). Los ensayos se hicieron por triplicado y el análisis estadístico se realizó por comparación de medias.

Resultados: Entre los resultados obtenidos, la DQO del lactosuero inicial fue de 52.400 ppm de oxígeno (desvío estándar D.E. 0,00). En condiciones anaeróbicas el rango de etanol obtenido fue de 2,60% (D.E. 0,21) a 5,26% (D.E. 0,12) y la DQO promedio de *Kluyveromyces marxianus* y *Saccharomyces cerevisiae* fue de 8.600 (D.E. 1046,20) y 6.900 (D.E. 158,30) ppm de oxígeno respectivamente mientras que Kluyveromyces lactis presentó valores medios de 4.600 (D.E. 932,6) ppm de oxígeno. Entre los tratamientos en condiciones aeróbicas, si bien las tres especies disminuyeron significativamente ($p<0,05$) hasta 6 y 8 veces la DQO del líquido remanente luego de 96 horas de cultivo, específicamente Kluyveromyces marxianus lo hizo hasta valores de 4.100 (D.E. 79,50) ppm de oxígeno y produjo en promedio 11,95 (D.E. 0,40) gramos de biomasa por litro de lactosuero.

Conclusiones: Como conclusión se destaca que con los valores promedio de DQO obtenidos, los líquidos remanentes podrían ser tratados en plantas diseñadas para la mayoría de las industrias alimenticias según la legislación vigente. De las tres levaduras evaluadas en condiciones aeróbicas, Kluyveromyces marxianus es la que presentó mayor producción de biomasa y disminución de DQO. En anaerobiosis, si bien la obtención de etanol es relativamente menor que en otros procesos de fermentación con levaduras de remanentes líquidos de industrias alimenticias, se destaca la producción de un alcohol y la marcada disminución del impacto ambiental de la fabricación de quesos luego de estos tratamientos.

VI 123

0751 - ECOFISIOLOGÍA DE ESPECIES DE *CLADOSPORIUM* AISLADAS DE AMBIENTES AGRÍCOLAS DEL ALTO VALLE DEL RÍO NEGRO

TEMPERINI, Carolina[1] | RAMOS APABLAZA, Michael Francisco[1] | TUDELA, Marisa Andrea Aluminé[2] | PARDO, Alejandro Guillermo[3] | **POSE, Graciela Noemi** [4]

ESCUELA DE PRODUCCIÓN, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE. UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO NEGRO. [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) EEA ALTO VALLE/CONICET [2]; LABORATORIO DE MICOLOGÍA MOLECULAR. UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES/CONICET [3]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES/INTECH (CONICET) [4]

Introducción y Objetivos: La biodiversidad de especies fúngicas presentes en el aire de ambientas agrícolas de la región del Alto Valle del río Negro fue investigada durante tres años consecutivos (2014-2017), *Cladosporium* fue el género predominante. Diez especies fueron determinadas, como también su capacidad fitopatógena. Estudiar la interacción de los patógenos fúngicos con los parámetros ambientales es de suma importancia ya que estos seleccionarán aquellos microorganismos que presenten ciertas habilidades para adaptarse a las condiciones climáticas actuales y, en un futuro, a las nuevas condiciones en el marco de un cambio climático. Así, el objetivo fue estudiar la ecofisiología de las especies de *Cladosporium* aisladas determinando la influencia de factores ambientales sobre su crecimiento.

Materiales y Métodos: Se llevó a cabo sobre cuatro especies predominantes: *C. cladosporioides, C. limoniforme, C. asperulatum* y *C. subtillissimum*. Los parámetros ensayados fueron actividad acuosa (aw) (0,84; 0,86; 0,88; 0,90; 0,93; 0,97 y 0,99) y temperatura (5, 15, 25 y 37 °C). Se utilizó Agar Extracto de Malta (MEA) y las aw fueron ajustadas con glicerol. El inóculo se preparó a partir de suspensiones conidiales en solución de agua/glicerol con las aw ajustadas a los valores estudiados a una concentración final de $1x10^5$ conidios/mL. Un µL de la suspensión se inoculó en Placas de Petri de 55 mm de diámetro (10-100 conidios). Las placas se colocaron en bolsas de polietileno con una solución de glicerol ajustada a cada aw. La germinación fue determinada al tiempo de producción de tubo germinativo de longitud similar al diámetro del conidio en el 50% del inóculo. El crecimiento radial se determinó a partir de dos diámetros perpendiculares de la colonia y se midió diariamente durante siete semanas o hasta que la colonia alcanzó el borde de la placa de Petri.

Resultados: Los resultados obtenidos revelan que a temperaturas mayores o iguales a 37 °C ninguna de las cuatro especies puedo crecer a ninguna aw. A 25 °C, las especies pueden desarrollarse en medios con aw bajas (0,86-0,88) y a 15 °C sólo lo pueden hacer a una aw de 0,99. A temperaturas menores o iguales a 5 °C ninguna puede crecer a baja aw, pero sí pueden hacerlo a 0,99.

Conclusiones: Estos resultados cobran importancia considerando que la capacidad fitopatógena de estas especies fue demostrada, convirtiéndose en un riesgo para frutos almacenados en cámaras frigoríficas por largos periodos de tiempo, hecho ya registrado en peras Beurré Bosc. A los fines preventivos, esto debería considerarse teniendo en cuenta que la región está enmarcada en un clima mezotermal con una temperatura media anual (TMA) de 15,0 °C, como así también el efecto del cambio climático incipiente ya registrado en la región, que implica la suba de la TMA, tendencia que conduciría a condiciones aún más propicias para la emergencia de enfermedades producidas por estos hongos en los cultivos de la región.

VI 124

0768 - CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA Y FUNCIONAL A NIVEL DE GENOMAS DE COMUNIDADES MICROBIANAS EN CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA DE BARRO CLOACAL Y RESIDUO ALIMENTICIO

ORELLANA, Esteban | DAVIES-SALA, Carol G. | GUERRERO, Leandro D. | ERIJMAN, Leonardo

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (INGEBI)

Introducción y Objetivos: Los residuos alimenticios (RA) pueden ser valorizados mediante digestión anaeróbica. Sin embargo, los procesos de mono-digestión de materia orgánica fácilmente biodegradable son altamente susceptible a acidificación por acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV). Una alternativa es utilizar RA como co-sustrato en digestores que tratan barros cloacales (BR). La co-digestión ayuda a la estabilización del proceso, con el beneficio adicional de aumentar significativamente la producción de biogás. El objetivo de este trabajo es conocer qué cambios ocurren dentro de la estructura de las comunidades microbianas de digestores anaeróbicos de BR luego de la adición de co-sustrato, y cómo contribuye contribuye a la mejora del rendimiento, en términos de producción de biogás.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 4 reactores a escala de laboratorio (5L) a 37°C durante 161 días, con una alimentación diaria de BR, una concentración creciente de RA. El tiempo de retención celular fue 21 días. Se colectaron muestras de cada reactor a tiempos regulares, obteniendo en total 49 muestras, para las cuales se registraron valores de producción y composicion de biogas. Para el analisis de composición de las comunidades se secuenció el ADN extraído de todas las muestras con la plataforma Illumina Hiseq en INDEAR (Rosario, Argentina). Se ensamblaron genomas con Megahit, utilizandola información de correlación de frecuencia de tetranucleótidos, abundancia y porcentaje de GC. Para la predicción de genes se utilizó Prodigal y los genes obtenidos se anotaron con las bases de datos KEGG, CAZy, y NCBI . La clasificación taxonómica fue realizada por GTDB-Tk.

Resultados: La generacion de metano aumentó sinérgicamente con el porcentaje de sólidos volátiles provenientes del RA en todos los digestores. No se vio acumulación de AGV a lo largo del estudio (6 Arqueas y 142 Bacterias).

Conclusiones: La detección de un grupo de bacterias de los filos Firmicutes, Bacteroidetes, Synergistetes, Actinobacteria, y Espiroqueta conteniendo enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos (CAZ), pertenecientes a las familias glucosidasas, liasas y transferasas sugiere que los cambios en la comunidad bacteriana se produjeron en respuesta al cambio en el tipo de sustrato utilizado para la alimentación de los digestores. Por el contrario, los cambios en la alimentación no se reflejaron en cambios en el potencial metabólico de las arqueas metanogénicas.

VI 125

0777 - *PSEUDOMONAS PUNAUSTRALIS*: ANÁLISIS FUNCIONAL Y GENÓMICO DE UN NUEVO EXTREMÓFILO DE LA PUNA ARGENTINA.

ALONSO, Fernando Martín | CENTRON, Daniela | QUIROGA, María Paula

INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (IMPAM, UBA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Los microorganismos extremófilos son aquellos que colonizan ambientes de características extremas, entre los cuales se incluyen algunos representantes del género Pseudomonas. Este género posee capacidad de adaptación a nichos ambientales y clínicos normalmente no compatibles con la vida. El estudio funcional de la capacidad extremófila de especies de este género es primordial para comprender su ecología, epidemiología y potenciales caracteres de relevancia productiva. Para ello, se procedió a estudiar funcional y genómicamente la capacidad de resistencia a radiación UV de *Pseudomonas punaustralis* Ca10SN1.

Materiales y Métodos: Este aislamiento productor de piomelanina fue colectado en cercanías del río Rincón (Prov. de Catamarca, S 27º 37.999; W O68º 14.300, 3789 m.a.s.l.) siendo este un sitio con alto índice de radiación UV. A partir de cultivos en fase exponencial de *P. punaustralis* Ca10SN1, y de las cepas clínicas *P. aeruginosa* PA01 y *P. aeruginosa* PAE975, se inocularon placas con cada aislamiento por separado y se expusieron a luz UV-B durante 4 minutos en cuarto oscuro. Posteriormente, las placas con tratamiento de fotoreactivación (PR+) fueron expuestas a luz visible durante 120 minutos. Las placas sin tratamiento de fotoreactivación (PR-), luego de tratadas con UV, fueron cubiertas en papel aluminio e incubadas en oscuridad para evitar la activación de mecanismos de fotoreparación. Se incubaron las placas a 28°C durante 48 hs y se procedió al conteo de UFC de cada tratamiento realizado por triplicado. Paralelamente, se analizó la secuencia del gen de la fotoliasa (Phr) encontrada en el genoma de Ca10SN1 junto con otras fotoliasas y criptocromos previamente descriptos en las bases de datos de NCBI y UniProt (n=106). Se alinearon las secuencias obtenidas mediante MUSCLE y posterior inferencia filogenética usando el algoritmo de máxima verosimilitud y un bootstrap de 1000 réplicas empleando MEGA X.

Resultados: El conteo de UFC de Ca10SN1, PA01 y PAE 975 en el tratamiento PR- mostró una reducción del 71,6%, 95,1% y 96,97%, respectivamente, en relación al control. Asimismo, el tratamiento PR+ arrojó una capacidad de recuperación del 100% para Ca10SN1, 34,73% para PA01 y 23,24% para PAE 975. La Phr de Ca10SN1 se localizó en un cluster altamente conservado a nivel de género y correspondiente a las Phr de tipo I.

Conclusiones: Los resultados obtenidos acreditan la actividad superlativa de la Phr de Ca10SN1 respecto de sus contrapartes clínicas. A su vez, el mecanismo de fotoreparación tendría un efecto sinérgico junto a otros mecanismos de protección del daño al ADN inducido por radiación UV como es la producción de pigmentos como la piomelanina. La adaptación de *P. punaustralis* Ca10SN1 para soportar la radiación solar extrema, hace de esta nueva especie una importante fuente de material genético con potenciales aplicaciones biotecnológicas.

VI 126

0680 - BACTERIÓFAGOS EN EL CONTEXTO DE LA DISEMINACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN AGUAS RESIDUALES

BARRIOS, Melina[1] | BLANCO FERNÁNDEZ, María Dolores[1] | CAMMARATA, Robertina[1] | TORRES, Carolina[1] | POWER, Pablo[2] | **MBAYED, Viviana** [1]

CÁTEDRA DE VIROLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. CONICET [1]; LAB. RESISTENCIA BACTERIANA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Existe un reservorio de genes de resistencia a antibióticos (GRA) en bacterias patógenas, comensales y del ambiente y también en elementos genéticos móviles, incluyendo a los bacteriófagos. Las plantas de tratamiento de aguas residuales son consideradas nichos de diseminación de GRA. La transferencia horizontal de genes (THG) es considerada como el factor más importante en la pandemia de resistencia a antibióticos. Además de los mecanismos canónicos de THG, estudios recientes destacan el rol de las partículas de bacteriófagos como vehículos de diseminación de GRA en el ambiente. El objetivo de este trabajo fue analizar la presencia y diversidad de los genes de beta-lactamasas CTX-M y TEM en las fracciones de bacterias y de bacteriófagos de efluentes de plantas de tratamiento de residuos domiciliarios y de industrias vinculadas a la producción o procesamiento de alimentos de origen animal, para contribuir al conocimiento de la composición y el mantenimiento del resistoma.

Materiales y Métodos: Se recolectaron 39 efluentes crudos de plantas de tratamiento asociadas a la recolección de residuos domiciliarios y de industrias vinculadas a la producción de bovinos, porcinos, equinos, aves y productos lácteos, en la provincia de Buenos Aires. Se separaron fracciones enriquecidas en fagos y en bacterias. Mediante amplificación directa por PCR, secuenciación y análisis filogenéticos o de aminoácidos marcadores, se caracterizaron las diferentes variantes de GRA CTX-M y TEM.

Resultados: Los resultados mostraron una alta frecuencia de detección de ambos genes tanto en fagos como en bacterias. En aguas residuales domésticas, TEM fue más frecuente que CTX-M ($p < 0,0001$), pero también fue más frecuente que TEM en las aguas residuales industriales ($p = 0,0244$). TEM-116 fue la variante prevalente, con una proporción minoritaria de TEM-1 y una variante recientemente descripta, TEM-229. La búsqueda y caracterización de genes TEM entre patógenos merece un estudio más a fondo, ya que su presencia suele desatenderse en comparación con otras enzimas clínicamente importantes. Sin embargo, en este trabajo se observó la presencia de dos variantes TEM de espectro extendido: TEM-116 y TEM-229. Con respecto a CTX-M, dada la epidemiología local, sorprendió encontrar variantes del grupo 9 como predominante, seguido por el 2, y en menor proporción el 25 y el 1. El hallazgo de CTX-M perteneciente a 4 de los 5 grupos descriptos, en la fracción de bacteriófagos, sugiere que existe una subestimación de estas variantes entre los patógenos bacterianos y podría indicar el surgimiento local de las mismas. La mayor diversidad observada en la fracción de bacteriófagos podría atribuirse a la mayor estabilidad de los fagos en el ambiente. La detección de una secuencia divergente del grupo 2, asociada a otras secuencias de origen ambiental, sustenta la hipótesis del ambiente como un reservorio natural de genes de resistencia.

Conclusiones: Los bacteriófagos podrían cumplir un rol en la emergencia y diseminación de GRA y podrían ser útiles como reporteros de los genes que circulan en las poblaciones bacterianas.

VI 127

0904 - EVALUACIÓN DE LA CARGA PARASITARIA EN LOS RÍOS WIERNA Y MOJOTORO DE LA PROVINCIA DE SALTA, ARGENTINA

REYES, Sarita | SANGUINO-JORQUERA, Diego Gaston | POMA, Hugo Ramiro | RAJAL, Verónica B. | **CRISTÓBAL, Héctor A.**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA

Introducción y Objetivos: El río Wierna corre de norte a sur cruzando el departamento La Caldera (Salta), y se une con el río Vaqueros para llamarse Mojotoro. Este en su recorrido recibe la descarga de dos plantas de tratamiento de aguas residuales, que deterioran su calidad. Paradójicamente, los ríos en algunas de sus secciones se emplean con fines recreativos. Aunque en Argentina no existen normativas que regulen el estado microbiológico de aguas para usos recreativos, se utilizan indicadores bacterianos estándares para el control de calidad. No obstante, diversos estudios demuestran que no hay correlación entre la presencia de estos indicadores y de patógenos, entre ellos parásitos. Estos representan un riesgo para la salud humana puesto que algunos son persistentes en el ambiente y resistentes a tratamientos de desinfección. Las enfermedades parasitarias relacionadas con el contacto directo o indirecto de aguas contaminadas incluyen: amebiasis, criptosporidiosis, giardiasis y esquistosomiasis, entre otras. El objetivo del trabajo fue determinar la carga parasitaria en el agua en tres sitios del recorrido de estos ríos, dos de ellos bajo la influencia de plantas de tratamientos de aguas residuales.

Materiales y Métodos: El presente estudio se realizó en tres puntos (P): P1 sobre el río Wierna, P2 sobre el río Mojotoro después de un desagüe de una vieja planta de tratamiento y P3 sobre el río Mojotoro, unos 5 km aguas abajo del drenaje de la planta de tratamiento norte nueva. Se recolectaron 20 l de agua desde Mayo a Noviembre de 2018, las cuales fueron concentradas con un sistema de ultrafiltración con fibra hueca. A un total de 90 muestras concentradas se realizaron observaciones en fresco, por microscopía óptica (400x) para parásitos patógenos humanos y preparados fijados teñidos con Ziehl Neelsen modificado para la determinación de elementos ácido resistentes compatibles con ooquistes de *Cryptosporidium sp*. (1000x).

Resultados: Los resultados del análisis parasitológico mostraron que en el 90% de las muestras había amebas de vida libre, independientemente del punto y fecha de monitoreo y de otros parásitos, entre las cuales se observaron quistes del género Acanthamoeba sp. en los tres puntos. Sólo en P2 se observaron huevos de Taenia sp., oo-quistes de *Toxoplasma sp*. y *Entamoeba sp*., y la mayor incidencia (66,67%) de larvas de nemátodos de todos los puntos de monitoreo. Por otro lado, sólo en P1 y P3 se observaron huevos de Ancilostomideos. Además, el 73,33% de las muestras fueron positivas para elementos ácido resistentes compatibles con ooquistes de *Cryptosporidium sp*., de las cuales el 56,67% presentó solo un ooquiste; para P2 y P3 se encontraron entre 2 y 5 ooquistes, y en P3 una muestra con 6 y 10 ooquistes.

Conclusiones: Finalmente, todos los parásitos encontrados presentan un potencial efecto adverso para la salud humana, por lo que ninguno de los ríos debería ser empleados con fines recreativos que involucren contacto directo con el agua.

VI 128

0907 - ACTIVIDAD QUORUM SENSING EN MICROORGANISMOS ANTÁRTICOS ASOCIADOS A *DESCHAMPSIA ANTARCTICA*

BERTINI, Elisa Violeta[1] | LEGUINA, Ana Carolina Del V.[1] | TORRES, Mariela Analía[1] | CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucía I.[1] | MAC CORMACK, Walter[2] | **NIETO PEÑALVER, Carlos Gabriel** [1]

PROIMI [1]; INSTITUTO ANTÁRTICO ARGENTINO [2]

Introducción y Objetivos: *Deschampsia antárctica* Desv. (Poaceae) es una planta angiosperma vascular nativa del continente antártico. Parte de esta flora sufre contaminación con hidrocarburos, lo que podría afectar las comunidades microbianas asociadas a la planta y sus mecanismos de señalización. Los sistemas de quorum sensing (QS) son mecanismos de regulación de la fisiología microbiana que dependen de la producción de moléculas señal, las cuales se acumulan a medida que aumenta la densidad poblacional. Si bien la comunidad bacteriana asociada a *D. antárctica* ha sido descripta con anterioridad, los sistemas de QS no fueron caracterizados. A su vez, la incidencia de hidrocarburos sobre los mismos es aún desconocida, por lo que ambos interrogantes se plantearon como objetivos del trabajo.

Materiales y Métodos: Cinco agrupaciones de *D. antárctica* (tres de sitios prístinos y dos de sitios contaminados con gasoil antártico) se aislaron de las inmediaciones de la base antártica Carlini. Se trabajó con 20 individuos de cada agrupación, analizándose un total de 100 individuos. Los ejemplares se sembraron en medio de cultivo LB hasta el desarrollo de colonias. La actividad QS de los microorganismos se puso de manifiesto a través de bioensayos con *Chromobacterium violaceum* CV026 y VIR07. A partir del revelado, se realizó el aislamiento de microorganismos considerando las zonas que mostraban producción de violaceína. También se determinó pH, temperatura y concentración de hidrocarburos de los suelos.

Resultados: La temperatura de los suelos osciló entre 5 y 11 ºC, el pH fue cercano a 7 en todas las muestras y la concentración de hidrocarburos fue nula en las zonas prístinas mientras que en suelos contaminados alcanzó valores de 1528±233 y 955,9±64 mg Kg^{-1}, respectivamente. Con los biosensores, 36 individuos dieron resultados positivos, 28 de los cuales respondieron al revelado con CV026 y 8 con VIR07. Si bien 9 ejemplares sometidos a la presencia de gasoil antártico manifestaron zonas de coloración con CV026, las moléculas de cadena larga no pudieron detectarse con VIR07. El crecimiento microbiano asociado a sitios prístinos respondió al revelado con ambos biosensores, sin embargo se observó una menor incidencia para las moléculas de cadenas más largas. A partir de los bioensayos, se obtuvieron 42 aislamientos con actividad QS, de los cuales el 67% provino de la rizósfera.

Conclusiones: Los resultados obtenidos permiten inferir que la metodología propuesta para el aislamiento de microorganismos QS positivos vinculados a *D. antárctica* fue efectiva. A su vez, se encontraron diferencias en la detección de moléculas señal en presencia de hidrocarburos, particularmente en las moléculas de cadena larga. Considerando que los microorganismos regulan su fisiología a través de sus sistemas de QS, es importante profundizar su caracterización y la influencia de hidrocarburos sobre los mismos para conocer su participación en la sobrevida bacteriana y en las interacciones con *D. antárctica*.

VI 129

0912 - RESPUESTA DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA DEL SUELO AL PASTOREO OVINO EN UN ECOSISTEMA ÁRIDO DE PATAGONIA

MARCOS, Magalí | CARRERA, Analía L. | BERTILLER, Mónica B. | **VALLEJOS, María Belén** | OLIVERA, Nelda

INSTITUTO PATAGÓNICO PARA EL ESTUDIO DE LOS ECOSISTEMAS CONTINENTALES (IPEEC - CCT CONICET CENPAT)

Introducción y Objetivos: El impacto del pastoreo ovino sobre los microorganismos y la actividad enzimática del suelo es aún poco comprendido en ecosistemas áridos y semiáridos. El objetivo de este estudio fue analizar la variabilidad temporal (muestreos estacionales durante dos años) y espacial (parches vegetados vs. inter-parches de suelo desnudo) de la actividad de enzimas deshidrogenasas (DHA) del suelo como indicadora de la actividad microbiana general, en sitios con y sin pastoreo característicos del Monte Patagónico.

Materiales y Métodos: Se seleccionaron dos sitios con distinta historia de pastoreo: uno de ellos que continúa con el pastoreo ovino tradicional y otro con exclusión del mismo durante los seis años previos al primer muestreo. En cada sitio se seleccionaron parches de vegetación modales (tamaño y forma) y los inter-parches lindantes en primavera, verano y otoño durante dos años consecutivos. En cada muestreo se midió la resistencia a la penetración en los parches e inter-parches y se extrajeron muestras de suelo superficial en las que se determinó la DHA, la humedad, el contenido de gravas y la biomasa de mantillo.

Resultados: En ambos sitios se observaron variaciones en la DHA entre distintas fechas de muestreo, pero las mismas no correspondieron a un patrón estacional. En el sitio pastoreado, la DHA fue significativamente ($p < 0,05$) superior en el suelo asociado a los parches vegetados que en aquel de los inter-parches a lo largo de todo el período de estudio, mientras que en el sitio sin pastoreo no se observaron diferencias significativas entre parches e inter-parches. La biomasa de mantillo correlacionó significativamente con la DHA en ambos sitios (rho de Spearman: 0,21, $p < 0,001$ para ambos sitios), mientras que la humedad del suelo no correlacionó significativamente con la DHA (rho de Spearman: 0,07, $p > 0,05$). Además, se encontraron correlaciones negativas significativas entre la DHA y la resistencia del suelo a la penetración (rho de Spearman: -0,39, $p < 0,001$) y entre la DHA y el contenido de gravas del suelo (rho de Spearman: -0,16, $p < 0,05$), sólo en el sitio pastoreado.

Conclusiones: Estos resultados indican que el pastoreo indujo un aumento de la heterogeneidad espacial de la DHA que estuvo positivamente asociada con la acumulación de mantillo y negativamente con la resistencia a la penetración y el contenido de gravas. La menor DHA en los inter-parches pastoreados puede explicarse por el aumento de la compactación inducida por el pisoteo de los ovinos y su mayor exposición a los procesos erosivos. La ausencia de diferencias significativas en la DHA entre parches e inter-parches del sitio no pastoreado sugiere que la heterogeneidad espacial de la actividad microbiana del suelo puede revertirse con la exclusión del pastoreo ovino y la paulatina recuperación de la vegetación.

VI 130

0916 - DIVERSIDAD GENÉTICA DE AISLAMIENTOS DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* DE ALIMENTOS EN ARGENTINA

MARTÍNEZ, Claudia[1] | AYBAR, Mariana[2] | FRESCHI, Mariela[2] | SARNIGUET, Soledad[2] | CABRERA, Josefina[2] | MARTÍNEZ, Gisela[1] | **PRIETO, Monica Alejandra** [1]

INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [1]; SERVICIO MICROBIOLOGÍA, INAL-ANMAT [2]

Introducción y Objetivos: La listeriosis, infección causada por *Listeria monocytogenes* (Lm), es una enfermedad transmitida por alimentos. Afecta generalmente a inmunocomprometidos, mujeres embarazadas y recién nacidos. Listeriosis se caracteriza por diversas afecciones clínicas, como abortos espontáneos, meningoencefalitis, septicemia, gastroenteritis e infecciones graves en neonatos. Los brotes han sido relacionados con diversos alimentos contaminados. Los alimentos de mayor riesgo son productos elaborados que no son sometidos a cocción previa al consumo.

Materiales y Métodos: Fueron analizados 54 aislamientos recuperados de diferentes alimentos. La identificación fue confirmada por métodos convencionales. El seroagrupamiento fue realizado por PCR múltiple.

La subtipificación se realizó mediante macrorrestricción de ADN con las enzimas AscI y ApaI y separación en campo pulsado (PFGE), según protocolo de PulseNet-CDC. Para el análisis de la relación genética, se generaron dendrogramas con el software BioNumerics 5.10 (Applied Maths), utilizando el método UPGMA. Los aislamientos se agruparon en un mismo pulsotipo cuando sus perfiles de restricción con ambas enzimas fueron idénticos.

Resultados: Los aislamientos fueron aislados de vegetales congelados (50%), embutidos y salazones (28%), comidas elaboradas con diversas matrices, como empanadas, tartas, emparedados, etc, (17%), y cremas heladas (5%). El serogrupo (SG), IIa fue el prevalente (56%), seguido por el SG IIB (24%), y el SG IVb (20%). El 77% de los aislamientos de vegetales congelados correspondieron al SG IIa. Los SG IIb y IVb fueron prevalentes en embutidos, salazones y comidas elaboradas. Todos los aislamientos de cremas heladas resultaron SG IVb. La subtipificación por PFGE produjo 51 pulsotipos combinados ApaI-AscI que presentaron similitud menor al 85%.

Conclusiones: Los aislamientos de vegetales y granos congelados no son considerados listos para el consumo ya que la cocción es sugerida en los envases. Sin embargo, los mismos fueron incluidos en los estudios de subtipificación como parte de actividades de vigilancia debido a un alerta internacional durante el año 2018 por brote notificado en Hungría, el cual afectó a varios países de la Unión Europea y estuvo asociado al consumo de choclo congelado. El SG IIa prevalente en estos alimentos está asociado a infección humana en forma muy infrecuente. Sin embargo, los SG IIb y IVb prevalentes en embutidos, comidas elaboradas y cremas heladas son los SG responsables de más del 98% de los casos de listeriosis, por lo cual estos alimentos contaminados representan un riesgo para salud pública. Sin embargo, la diversidad genética observada entre los aislamientos estudiados no sugieren la circulación de clones epidémicos.

VI 131

0918 - CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS TERMOFÍLICAS AISLADAS DE TAPETES BACTERIANOS FORMADOS EN LAS AGUAS TERMALES DE LA ZONA GEOTÉRMICA DE COMANJILLA, GUANAJUATO, MÉXICO

NORIEGA LUNA, Berenice | PUY Y ALQUIZA, María Jesús | SERAFÍN MUÑOZ, Alma Hortensia | VÁZQUEZ LARA, América Yazmin | MENDOZA PUGA, Luis Enrique | MIRANDA AVILES, Raúl

UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

Introducción y Objetivos: Las aguas termales son ecosistemas extremos que constituyen un entorno propicio para muchos organismos vivos. De acuerdo con su temperatura de vida, los microorganismos pueden dividirse en cuatro grupos principales: psicrófilos (de vida fría), mesófilos (de temperatura moderada), termófilos (de calor) e hipertermófilos. Los microorganismos termófilos sobreviven a altas temperaturas (45-80°C). Generalmente, los termófilos se dividen en tres categorías principales según su temperatura de crecimiento básica: termófilos (35-70°C), termófilos extremos (55-85°C) e hipertermófilos (75-113 °C). Los termófilos se pueden encontrar en aguas termales, respiraderos hidrotermales de aguas profundas o en cualquier lugar con calefacción. Las fuentes termales son el paraíso de los microbios termoestables y sus enzimas. En el estado de Guanajuato se localizan alrededor de 40 sitios geotérmicos naturales, las temperaturas para estas aguas termales varían en el rango de 32-110°C, en donde la comunidad de Comanjilla, se eligió como sitio de estudio para el aislamiento e identificación de microorganismos termofílicos, ya que se encuentra en el rango de temperatura adecuado para los termófilos. Los objetivos de esta investigación fueron: Aislar microorganismos termofílicos de tapetes microbianos formados en las aguas termales; Caracterizar morfológicamente los microorganismos termofílicos; 3. Identificar las cepas de microorganismos termofílicos mediante la amplificación por PCR de fragmentos del gen 16S rRNA; 4. Examinar la capacidad enzimática de los aislamientos.

Materiales y Métodos: La morfología celular de las cepas seleccionadas se analizó con un microscopio óptico después de la tinción de Gram de las células. Las características fisiológicas y bioquímicas de los aislamientos se investigaron de acuerdo con los métodos descritos por Harley y Prescott (2002). El ADN genómico total se extrajo de muestras de bacterias utilizando un método modificado descrito previamente por Wilson (2001).

Resultados: El agua termal estudiada se clasificó como agua hipertermal (45-100°C) con una tendencia química global de los iones hacia un comportamiento de tipo H2S-Na (sulfuradas sódicas), de origen profundo y de baja mineralización, observando un alto contenido de sílice y bajo en calcio y magnesio. Los aislados bacterianos fueron caracterizados morfológica y bioquímicamente. La secuenciación del 16S rDNA de los aislados reveló que las cepas podrían identificarse como *Bacillus licheniformis*. El análisis de búsqueda BLAST de la secuencia mostró una identidad máxima con *Bacillus* (99% de similitud). El análisis filogenético del aislamiento reveló una estrecha relación con especies de *Bacillus* termófilas. Los resultados muestran una clara dominación del género Bacillus representado por *Brevibacillus agri* y *Paenibacillus sp*. Estas bacterias son Gram positivas, pigmentadas de amarillo, no motrices y no esporulantes de 0.2 a 0.5 µm de longitud crecieron bien a un pH neutro y ligeramente alcalino. Los aislados mostraron capacidad para producir algunas enzimas termoestables tales como: amilasa, catalasa y lipasa así como fermentación de manitol, pero no se observó actividad en fermentación de lactosa, licuefacción de gelatina, rojo de metilo y Voges de Proskauer.

Conclusiones: Se ha considerado la posibilidad del uso de las cepas bacterianas seleccionadas, informadas en el presente estudio, en los diferentes sectores de la industria energética y en aplicaciones biotecnológicas.

VI 132

0980 - CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA LAGUNA ANAEROBIA DE TRATAMIENTO DEL RELLENO SANITARIO DE LA CIUDAD DE SANTA FE

ARGARAÑÁ, María Fernanda | LURÁ, María Cristina | VACCARI, María Celia | LATORRE RAPELA, María Gabriela

CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA GENERAL. FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS. UNL.

Introducción y Objetivos: Los procesos biológicos anaerobios han demostrado ser los más eficientes para degradar la materia orgánica presente en lixiviados generados por residuos sólidos urbanos. Las lagunas de estabilización son una alternativa de bajo costo para este tratamiento, donde las bacterias anaerobias son las responsables de la reducción de la materia orgánica. La importancia de conocer los grupos microbianos que participan de la degradación anaerobia deriva de las complejas relaciones ecológicas entre ellos, mediadas por sus requerimientos metabólicos y sus particularidades fisiológicas. Entre ellos existe una estrecha interdependencia fisiológica, que implica la necesidad nutricional de un grupo respecto al producto metabólico de otro, de manera que se establece un equilibrio ecológico que permite una considerable disminución de la Demanda biológica de oxígeno (DBO) y la Demanda química de oxígeno (DQO) de la carga contaminante del sustrato. El objetivo de este trabajo fue caracterizar los grupos funcionales microbianos relacionados con las poblaciones que participan en la degradación de la materia orgánica presentes en la laguna anaerobia de tratamiento del relleno sanitario de la Ciudad de Santa Fe.

Materiales y Métodos: Se tomaron muestras en meses de altas y bajas precipitaciones durante los años 2017 y 2018. Mediante la técnica de NMP (n=3), se evaluó la presencia de diferentes grupos metabólicos: Bacterias fermentadoras de glucosa y del lactato; Bacterias acetogénicas del propionato y el etanol y Bacterias metanogénicas hidrogenofílicas y acetoclásticas utilizando medios con sustratos específicos para cada población. Las muestras se procesaron en cámara de anaerobiosis con atmósfera controlada de N2/H2/CO2. Para identificar los microorganismos integrantes de estos grupos metabólicos, una de las muestras se derivó para el estudio metagenómico por secuenciación de alto rendimiento de genes del 16S rRNA y análisis bioinformático de los resultados.

Resultados: En todas las muestras procesadas se detectó la presencia de los grupos funcionales ensayados por NMP (Bacterias fermentadoras, acetogénicas y metanogénicas) con recuentos superiores a 10^5 NMP/ml. Se identificaron 14 phylum siendo los predominantes *Bacteroidetes* y *Firmicutes*. Se logró la identificación de 26 órdenes, 38 familias y 26 géneros. Dentro del phylum *Bacteroidetes*, la familia *Porphyromonadaceae* fue la más abundante y dentro de *Firmicutes*, la familia *Clostridiaceae*. *Bacteroidetes* es un grupo metabólicamente heterogéneo que participa en la digestión anaerobia mediante hidrólisis y acidogénesis. Los miembros del phylum *Firmicutes* intervienen en la descomposición y reciclaje de la materia orgánica en suelos y entornos acuáticos.

Conclusiones: Este trabajo es el primer informe acerca de la diversidad microbiana de la laguna anaerobia de tratamiento del Complejo ambiental de la ciudad de Santa Fe. El estudio de las comunidades y sus relaciones permitirán entender los procesos que pueden estar ocurriendo, de manera de optimizarlos.

VI 133

0998 - DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DEL RÍO WIERNA-MOJOTORO, EN SALTA, MEDIANTE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS Y FISICOQUÍMICOS

REYES, Sarita | MAIDANA KULESZA, Maria Noel | CORBALÁN, Natalia | POMA, Hugo Ramiro | RAJAL, Verónica B. | **CRISTÓBAL, Héctor A.**

INIQUI-CONICET, UNSA

Introducción y Objetivos: La presencia de patógenos en aguas para consumo, actividades recreativas o riego, constituye un vehículo importante para la transmisión de enfermedades. Los ríos urbanos sufren impactos por actividades antrópicas, teniendo como resultado niveles de contaminación superiores a los tolerables. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica de los ríos Wierna y Mojotoro, en la provincia de Salta.

Materiales y Métodos: El primer río se emplea para actividades recreativas y el segundo sufre el impacto de dos plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR 1 y 2). Se monitorearon 3 puntos, uno sobre el río Wierna (P1) aguas arriba de las PTAR, y dos sobre el río Mojotoro: P2 posterior a la descarga de PTAR 1 y P3 después de la descarga de PTAR 2. Se recolectaron 30 muestras de agua por triplicado desde mayo a

noviembre de 2018. Las variables fisicoquímicas fueron medidas in *situ* con un medidor multiparamétrico U10 (Horiba): temperatura (T), pH, conductividad (CON), turbidez (TURB), salinidad (SLD) y oxígeno disuelto (OD). Los análisis microbiológicos fueron: coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) empleando el método de tubos múltiples en caldo MacConkey; aerobios mesófilos totales (AMT), *Escherichia coli* (ECL), *Enterococcus* (EC), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Salmonella* (SAL) y hongos y levaduras (H-L), mediante la técnica de filtración con membrana en medios específicos. Se realizó un análisis de correlación no paramétrica de Spearman ($p<0.05$) y se evaluó mediante el test de Wilcoxon ($p<0.05$) la influencia que ejercen las PTAR sobre las variables estudiadas.

Resultados: Las concentraciones de ECL y EC obtenidas en P1 resultaron por debajo de los valores límites establecidos por la normativa USEPA-2015; sin embargo, en P2 y P3 se observaron valores superiores a los permitidos. Se detectó SAL en todos los puntos, con concentraciones mínimas y máximas de: 19 y 697 UFC/100 ml en P1, 102 y 1783 UFC/100 ml en P2 y 31 y 596 UFC/100 ml en P3. Se observó que solo los valores de pH para todos los puntos fueron superiores a los admitidos por la normativa WHO-2006. Las correlaciones entre ECL y SAL fueron estadísticamente significativas en todos los puntos de muestreo. Del total de variables analizadas, el 64,2% presentaron diferencias estadísticamente significativas entre P1 (antes de las PTAR) y P2-P3 (después de las PTAR), entre ellas CT, CF, AMT, EC, ECL, HL, pH y COND.

Conclusiones: Se puede concluir que el río Mojotoro presenta un deterioro importante en la calidad del agua en su recorrido después de las PTAR debido al vertido de aguas residuales que contaminan continuamente el río. Se confirmaron elevadas concentraciones de los indicadores microbiológicos estudiados en P2 y P3 de acuerdo con la normativa internacional. Por lo tanto, el agua en estos sitios representa un riesgo para la salud de la población y no debe usarse con fines recreativos, especialmente para aquellas actividades que involucran el contacto directo con los usuarios.

CAM - Microbiología veterinaria

VI 134

0311 - EFICACIA DE *PANAX GINSENG* COMBINADO CON CEFALEXINA COMO TERAPIA DE SECADO EN VACAS

BECCARIA, Camila [1] | BARAVALLE, Celina[2] | SILVESTRINI, Paula[1] | RENNA, María[2] | PEREYRA, Elizabet Amanda Lorena[2] | VELÁZQUEZ, Natalia Soledad[1] | PIROLA, Silvana Inés[1] | CALVINHO, Luis Fernando[3] | DALLARD, Bibiana Elisabet[2]

INSTITUTO DE CIENCIAS VETERINARIAS DEL LITORAL (ICIVET-LITORAL) UNL-CONICET [1]; ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET)/FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS-UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]; FCV-UNL / INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) E.E.A RAFAELA [3]

Introducción y Objetivos: La terapia de secado con antibióticos es una práctica habitual en los protocolos de prevención de infecciones intramamarias (IIM) en rodeos lecheros. Sin embargo, el uso indiscriminado de los mismos ha llevado a la aparición de cepas bacterianas resistentes y a un aumento en los fracasos terapéuticos. En los últimos años se ha planteado la necesidad de desarrollar nuevas alternativas terapéuticas y preventivas dirigidas a disminuir su uso. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de *Panax ginseng* (Pg) en combinación con cefalexina (Cf) aplicados al momento del secado para curar IIM existentes y prevenir nuevas al pos parto (pp).

Materiales y Métodos: Se utilizaron 108 vacas que fueron divididas al azar en dos grupos experimentales. Las vacas del grupo 1 fueron tratadas al secado con una preparación antibiótica de aplicación intramamaria (IM) conteniendo Cf (100 mg totales). Las del grupo 2 fueron tratadas con una preparación de aplicación IM conteniendo 3 mg/ml de Pg, más Cf (igual al grupo 1). Se tomaron muestras de leche para cultivos bacteriológicos el último día del ordeño previo a la aplicación del tratamiento y a las 24 hs pp. Se definieron como cuartos curados a aquellos que mostraron aislamiento microbiológico positivo al secado y ausencia de IIM al pp y se definieron como nuevas IIM a aquellos cuartos con aislamiento microbiológico negativo al secado y presencia de IIM al pp. Se analizó el efecto de los tratamientos sobre patógenos individuales como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus* coagulasa negativos (SCN) y sobre las categorías ambientales (*Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*) y contagiosos (*S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp*). El análisis estadístico se realizó mediante un modelo lineal generalizado mixto con función de enlace logística binaria. La producción de leche y el recuento de células somáticas (RCS) fueron analizados a lo largo de la lactancia siguiente posterior al tratamiento.

Resultados: Las tasas de nuevas IIM al pp de los cuartos tratados con Pg + Cf fueron similares a las detectadas con Cf para *S. aureus* ($p=0,313$), SCN ($p=0,267$) y para patógenos contagiosos ($p=0,285$) y ambientales ($p=0,517$), demostrándose un efecto preventivo similar. La tasa de cura de *S. aureus* y patógenos contagiosos fue mayor en los cuartos tratados con Cf en comparación con los tratados con Pg + Cf ($p=0,003$ y $p=0,042$); mientras que en ambientales fue similar para ambos tratamientos ($p=0,449$). Para SCN si bien la tasa de cura con Pg + Cf fue mayor (95,8%) a la observada en los tratados con Cf (69,8%) la diferencia no fue significativa ($p=0,13$). Pg no tuvo efectos negativos sobre la producción de leche y el RCS en la lactancia posterior al tratamiento.

Conclusiones: Este trabajo aporta nuevos conocimientos acerca de la eficacia de Pg + Cf como terapia de secado en vacas, con la finalidad de promover el desarrollo de productos que mejoren la salud de la glándula mamaria y la rentabilidad de los sistemas productivos.

VI 135

0335 - MODIFICACIÓN DEL AMBIENTE INTESTINAL COMO UN POTENCIAL MECANISMO DE PATOGÉNESIS EN *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

REDONDO, Leandro [1] | DIAZ-CARRASCO, Juan M.[2] | CASANOVA, Natalia A.[3] | CANGELOSI, Adriana[4] | GEOGHEGAN, Patricia[5] | GOLDSTEIN, Jorge[6] | FERNANDEZ-MIYAKAWA, Mariano E.[7]

INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA, CICVYA – INTA/CONICET [1]; INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA, CICVYA – INTA/CONICET [2]; INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA, CICVYA – INTA [3]; CENTRO NACIONAL DE CONTROL DE CALIDAD DE BIOLÓGICOS, ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [4]; CENTRO NACIONAL DE CONTROL DE CALIDAD DE BIOLÓGICOS, ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [5]; DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA, UBA/CONICET [6]; INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA, CICVYA – INTA/CONICET [7]

Introducción y Objetivos: *Clostridium perfringens* es una bacteria anaerobia, formadora de endosporas que puede encontrarse como un componente de la microbiota intestinal en seres humanos y animales sanos. Frente a cambios en el ambiente intestinal, algunas cepas son capaces de proliferar y producir diferentes toxinas con efectos locales y sistémicos, dando lugar a una gran variedad de enfermedades enterotóxicas. Aunque existen numerosos trabajos describiendo el efecto de diferentes factores predisponentes, la información referida a los eventos iniciales (ej. colonización intestinal) es limitada. El presente trabajo describe los cambios en la microbiota intestinal en ratones desafiados con dosis sub-letales de toxina épsilon (ETX). Esta toxina es considerada la toxina más potente producida por esta *C. perfringens* y es el principal factor de virulencia responsable de la enterotoxemia en rumiantes. Aunque los reportes de enfermedad en humanos son escasos, trabajos recientes sugieren que la misma puede actuar como un potencial desencadenante en la patogenia de la esclerosis múltiple en humanos.

Materiales y Métodos: Inicialmente se determinó la dosis letal 50 (LD_{50}) para ETX a partir de lo cual se decidió trabajar con dosis sub-letales. Grupos de ratones fueron divididos en 3 tratamientos con 3 réplicas cada uno. Los grupos tratados fueron inoculados por vía endovenosa con 0.25 LD_{50} y 0.25+0.25 LD_{50}, el último grupo se usó como control y fue inoculado con solución fisiológica. Luego de 4 días los ratones fueron sacrificados y se tomaron muestras de ciego para estudios de microbiota y de cerebro para determinar el efecto de la toxina mediante histología. Las poblaciones bacterianas presentes en el ciego de ratones desafiados y no desafiados fueron caracterizadas mediante secuenciación de una fracción del gen 16S rRNA.

Resultados: Los ratones que recibieron dosis de ETX sub-letales mostraron neuronas con cromatólisis y citoplasma retraído compatible con cambios degenerativos. En comparación con el grupo control, los animales tratados presentaron diferencias significativas en la composición de la microbiota ($P<0.05$). Las principales alteraciones que se observaron se incluyen la reducción de los géneros *Lactobacillus* y *Roseburia*. Estas bacterias potencialmente pueden tener un efecto antagonista sobre la colonización intestinal por *C. perfringens*. Los grupos que aumentaron incluyen diferentes miembros del orden *Bacteroidales*, como el género *Prevotella*, los que podrían favorecer la colonización de *C. perfringens* mediante un aumento en la producción de mucus.

Conclusiones: Las alteraciones observadas en la microbiota intestinal de los ratones desafiados con ETX sugieren que el efecto de esta toxina potencialmente contribuye a la colonización intestinal por parte de *C. perfringens*.

VI 136

0417 - EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTICULA EN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANO A SER UTILIZADAS COMO AGENTE TERAPEUTICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA MASTITIS BOVINA

ORELLANO, María Soledad[1] | BRESER, María Laura[1] | BOHL, Luciana Paola[1] | ISAAC, Paula[1] | FALCONE, Darío[2] | **PORPORATTO, Carina** [1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE VILLA MARÍA (CONICET-UNVM), UNIV. NACIONAL VILLA MARÍA [1]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO. [2]

Introducción y Objetivos: La mastitis bovina (MB) es una inflamación de la glándula mamaria producida principalmente como respuesta al ingreso de microorganismos que genera grandes pérdidas económicas a la actividad láctea. El tratamiento consiste en el uso de antibióticos, sin embargo, estos no pueden erradicar por completo la infección. Esto se debe a los mecanismos resistencia y supervivencia que desarrollan los patógenos, como la formación de biofilm y la sobrevida intracelular en células bovinas, evadiendo las terapias antibióticas y la respuesta inmune del huésped. Por ello, se necesitan nuevas terapias que permitan disminuir el uso de

antibióticos y superar los mecanismos de supervivencia que desarrollan los patógenos. Las nanopartículas han atraído recientemente mucha atención como agentes antimicrobianos. El quitosano (Q) es un polisacárido no toxico, biocompatible, y con actividad antibacteriana. Este trabajo propone evaluar el potencial que presentan nanopartículas de quitosano (NPs-Q) para ser utilizadas en el tratamiento de la MB.

Materiales y Métodos: Las Nps-Q se sintetizaron empleando micelas inversas (MIs) como nanoreactores. Se estudiaron diferentes nanoreactores (n-heptano/AOT/H2O y benceno/BHDC/H2O) obteniendo de esta manera tres muestras de NPs-Q de diferentes tamaños. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) de las muestras contra bacterias del género Staphylococcus aislados de casos de MB. Se estudió la capacidad de NPs-Q de inhibir la formación de biofilms mediante el ensayo de adherencia al plástico y tinción con cristal violeta. Se investigó el efecto del pre-tratamiento de célula epiteliales mamarias bovinas (MAC-T) con NPs-Q en la internalización de S. aureus y la capacidad de inducir una respuesta inflamatoria, analizando la producción de IL-6 y IL-1 β, en sobrenadante de cultivo por ELISA.

Resultados: Se observó que las NPs-Q de menor diámetro (134nm) presentaron mejor efecto bactericida, con menor CIM y CBM, independientemente del tipo de MIs empleadas en la síntesis. Además, las NPs-Q de menor tamaño mostrando mejor efecto inhibitorio de la formación de biofilm. Estas NPs-Q redujeron la internalización de S. aureus V329 con menor recuento de UFC/ml respecto a células sin pre-tratar, siendo 400 µg /ml la dosis más efectiva. Las NPs-Q evaluadas no estimularon la producción de las citoquinas IL-6 y IL-1β respecto a los controles sin tratar.

Conclusiones: De esta manera, se demostró que las NPs-Q presentan efecto bactericida sobre patógenos aislados de MB, inhiben la formación de biofilms y reducen la internalización bacteriana a las células epiteliales mamaria a pesar de no promover una respuesta de tipo inflamatoria en dichas células. El empleo de MIs permitió obtener NPs-Q de diferentes tamaños siendo las NPs más pequeñas las más efectivas. Los resultados encontrados demuestran que NPs-Q presenta un gran potencial como agente antimicrobiano, a ser utilizado en el tratamiento eficiente de infecciones intramamarias.

VI 137

0704 - ANÁLISIS DE LA MODULACIÓN DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DE JUVENILES DE PACÚ SUPLEMENTADOS CON *PYROPIA COLUMBINA* Y BETA-CAROTENO MEDIANTE DGGE.

ROSSI, Lara[1] | ZIMMERMANN, Jorge[2] | BERISVIL, Ayelen[1] | ROSMINI, Marcela[3] | SOTO, Lorena[2] | **ZBRUN, María Virginia** [2] | CIAN, Raul[4] | DRAGO, Silvina[4]

ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET) [1]; ICIVET LITORAL (UNL-CONICET) / FCV-UNL [2]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [3]; ITA CONICET / FIQ-UNL [4]

Introducción y Objetivos: Para revertir el efecto del estrés generado en los sistemas intensivos de cultivo sobre la microbiota intestinal en los peces, se pueden implementar algunas estrategias, tales como la suplementación dietaria con prebióticos o micronutrientes para estimular el crecimiento de poblaciones bacterianas potencialmente promotoras de la salud. El objetivo de este trabajo fue evaluar la modulación de la microbiota intestinal de pacúes criados en cautiverio alimentados con dietas experimentales suplementadas con *Pyropia columbina* o beta-caroteno.

Materiales y Métodos: Los animales con un peso promedio de 10g fueron dispuestos en tanques de 300 L y divididos en 3 grupos experimentales con 3 réplicas cada uno: grupo dieta basal (BG) al que se le administró una dieta basal a base de harinas vegetales, grupo algas (AG) alimentados con dieta basal suplementada con 3,5% de Pyropia columbina y grupo beta-caroteno (B-CG) alimentados con dieta basal suplementado con 22,5mg% de beta-caroteno. Se tomó materia fecal y mucosa intestinal de 3 animales por grupo a los 0, 20, 41 y 62 d, se extrajo ADN genómico bacteriano y se amplificó, mediante PCR, la región V3 de los genes 16S, obteniéndose fragmentos de 200 pb. Los amplicones fueron separados mediante electroforesis en gel al 8% (p/V) de poliacrilamida (acrilamida/bisacrilamida 35.7:0.8) conteniendo un gradiente de 40-55% de urea y formamida. Los geles fueron teñidos con SYBR Safe y visualizados por Safe Image Blue-Light. Los archivos TIFF de imágenes de geles fueron analizados con el software Bionumerics. El análisis de clusters fue realizado usando el coeficiente de similitud de Dice para bandas con una tolerancia de posición del 1% y el método de UPGMA para generar el dendograma. También se calcularon los siguientes índices: diversidad con índice Shannon, homogeneidad con índice Pielou y riqueza con índice Margalef.

Resultados: Los perfiles pertenecientes a la microbiota de los peces del B-CG al día 62 se separaron del resto de los perfiles formando un cluster que se diferencia del resto en un 91%. A su vez, en el día 62, el índice de riqueza (P=0,049) y el índice de diversidad (P=0,044) fueron menores en el B-CG que en AG. El índice de homogeneidad no presentó diferencias. La disminución de la riqueza y diversidad de la microbiota de B-CG respecto de AG puede deberse a que el beta-caroteno tiene capacidad para regular el oxígeno del medio y por lo tanto puede favorecer o reducir el crecimiento de algunas poblaciones afectando la ecología microbiana.

Conclusiones: Es deseable que los índices de riqueza y diversidad sean altos ya que estarían relacionados a una microbiota más estable previniendo la colonización de bacterias no benéficas, promovería el desarrollo de

la inmunidad y a su vez, cuando ciertas poblaciones disminuyen otras puedan suplantarlas en las funciones. Por lo tanto, según estos índices evaluados, la microbiota intestinal de AG estaría más calificada que B-CG para soportar los frecuentes cambios ambientales que se producen en la acuicultura.

VI 138

0911 - RESISTENCIA A FLUOROQUINOLONAS COMO MARCADOR DE MULTIRESISTENCIA EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE ANIMALES DE COMPAÑÍA

NUSKE, Ezequiel [1] | MAS, Javier Alejandro[2] | ARGÜELLO, Andrea[3] | GUTKIND, Gabriel[1] | DI CONZA, Jose Alejandro[1] | RUMI, Maria Valeria[2]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA [1]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, MICROBIOLOGIA [2]; LABORATORIO DIAGNOTEST [3]

Introducción y Objetivos: La resistencia antimicrobiana (RAM) es un problema creciente de salud pública. "Una salud" invita a pensar también a los animales de compañía como fuentes de infección o vías de transmisión de microorganismos resistentes, así como reservorios de genes de resistencia. La presencia de aislamientos multirresistentes (MR) limita las opciones terapéuticas dada la resistencia a múltiples familias de antibióticos. Los aislamientos clínicos resistentes a fluoroquinolonas (FQ) podrían evidenciar clones exitosos con resistencias a un mayor número de antibióticos que los aislamientos sensibles. El objetivo del estudio fue asociar, en enterobacterias, la resistencia a FQ como marcador de MR.

Materiales y Métodos: En este trabajo se ensayaron 127 aislamientos de Enterobacterales (*E. coli, Klebsiella spp., Enterobacter spp., Serratia spp.* y *Proteus spp.*) provenientes de infecciones clínicas de caninos y felinos. La sensibilidad se determinó mediante la técnica de difusión con disco según recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Los discos ensayados fueron: ampicilina (AMP), amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ), imipenem (IMP), meropenem (MEM), cefoxitina (FOX), gentamicina (Gen), amikacina (AKN), ácido nalidíxico (NAL), ciprofloxacina (CIP), levofloxacina (LEV), enrofloxacina (ENR), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), doxiciclina (DOX), cefovecina (CVN), nitrofurantoína (NIT), cefepime (FEP). La interpretación de los halos de inhibición se hizo mediante el estándar CLSI 2019 y supplement VET08, 2018.

Resultados: Las tres FQ (CIP, LEV y ENR) ensayadas tuvieron un alto nivel de correlación entre ellas (ENR-CIP: 95%, ENR-LEV: 95%, CIP-LEV: 97%). Se clasificaron los aislamientos en resistentes a al menos una FQ (FQ-R) o completamente sensibles a FQ (FQ-S). Los aislamientos FQ-R fueron resistentes en promedio a 9 antibióticos diferentes (Percentil 25-75: [7.75-13]) mientras que los aislamientos FQ-S fueron resistentes en promedio solo a 3 antibióticos distintos (Percentil 25-75: [2-6]), $p<0.0001$. Se demostró asociación entre la resistencia a FQ y la resistencia a los antibióticos Beta-lactámicos (AMP, CTX, CAZ, CVN, FEP), GEN, TMS y DOX ($p<0.05$), adicionalmente se comprobó asociación entre FQ-R y MR (61% de FQ-R resultaron MR y solo el 13% de FQ-S fueron MR $p<0,0001$; OR: 11 IC 95%[4;27]).

Conclusiones: Los aislamientos FQ-R implicaron 11 veces la probabilidad de ser MR que los aislamientos FQ-S, asociando la resistencia a quinolonas con multirresistencia.

VI 139

0977 - EFECTO DE DIFERENTES PRODUCTOS PARA EL TRATAMIENTO DEL BIOFILM DE *STREPTOCOCCUS EQUI SUBSP. ZOOEPIDEMICUS* IN VITRO

VARON MOLANO, Jhonatan | ETCHECOPAZ, Alejandro | BUSTOS, Carla | GUIDA, Nora | **MESPLET, Maria** | MUÑOZ, Alejandra Jimena

CÁTEDRA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS. FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS.UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES,

Introducción y Objetivos: La endometritis bacteriana causada por *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es una de las principales causas de infertilidad en yeguas lo cual genera grandes pérdidas económicas en la producción equina. Frecuentemente, estas infecciones suelen volverse crónicas y refractarias a las terapias antimicrobianas tradicionales, lo que podría relacionarse con la capacidad de esta bacteria para crecer en biofilm y persistir en el útero. El biofilm consiste en una comunidad microbiana sésil que se adhiere a una superficie y se encuentra embedida en una matriz polimérica extracelular. Recientemente, se han propuesto nuevos tratamientos basados en la aplicación de lavajes uterinos con sustancias que actúan sobre la matriz extracelular del biofilm. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de la penicilina G (PEN), el ácido tetraceticoetilendiamina (EDTA) y la N-acetilcisteina (NAC) de disminuir o eliminar la formación de biofilm de (*S. zooepidemicus*) in vitro.

Materiales y Métodos: Se trabajó con tres aislamientos obtenidos de útero de yeguas que presentaban endometritis y la cepa de referencia ATCC 700400 (Medicatec®). Se evaluó la producción de biofilm de cada uno de los aislamientos por medio de espectrofotometría con cristal violeta y, por otro lado, se estudió el efecto que tenían diferentes concentraciones de los productos en el crecimiento de las células planctónicas. Una vez establecido dichos parámetros, estos productos se pusieron a prueba con cada uno de los biofilm preformados durante 24 horas, se tiñó con cristal violeta y se leyó mediante espectrofotometría

Resultados: La formación de biofilm fue inhibida por una concentración de PEN de (0,06 µg/ml) en dos de los aislamientos, esta concentración coincide con la concentración inhibitoria mínima (CIM) para las células planctónicas. La eliminación del biofilm en 3 de los aislamientos se evidenció a concentraciones mayores de 6.4 µg/ml. En cuanto a NAC, concentraciones de 75 mg/ml inhibieron tanto el crecimiento planctónico como el desarrollo de biofilm en todos los aislamientos evaluados. A concentraciones de 3 mg/ml de EDTA se observó inhibición del crecimiento de células planctónicas pero se requirieron concentraciones de 12 mg/ml para inhibir el desarrollo de biofilm. Las combinaciones de EDTA y PEN lograron inhibir el biofilm en tres de las cepas, sin embargo la erradicación fue menor a la observada con los productos de forma individual. Se observó que la combinación de PEN y NAC no tuvo efecto inhibitorio sobre el biofilm

Conclusiones: Este estudio demostró la capacidad del EDTA y el NAC de manera individual de ser agentes capaces de inhibir el crecimiento del (*S. zooepidemicus*) y además de eliminar de manera eficaz la producción de biofilm in vitro, esto sugiere que podrían ser utilizados como herramientas en el tratamiento endometritis crónicas en yeguas. Por otro lado, la combinación de los productos NAC y PEN no sería eficaz para eliminar biofilm, sin embargo utilizar los productos a distintos tiempos podría lograr una mayor eficacia. En trabajos posteriores se sugiere ampliar el estudio a un mayor número de cepas lo cual ayudaría a proporcionar más información acerca del comportamiento del biofilm de (*S. zooepidemicus*). Proyecto UBACyT 20020130100299BA.

VI 140

0992 - ESTUDIO DE GENES DE VIRULENCIA EN AISLAMIENTOS DE *SALMONELLA* SER. TYPHIMURIUM DE ORIGEN PORCINO

JOAQUIM, Patricia [1] | HERRERA, Mariana[2] | CHACANA, Pablo[1]

INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA, CICVYA – INTA [1]; SENASA [2]

Introducción y Objetivos: La salmonelosis es una enfermedad entérica con importancia tanto en Salud Pública como en salud animal debido al impacto económico y sanitario que ocasiona. *SALMONELLA* interacciona con el hospedador a través de distintos mecanismos asociados a la regulación de la expresión de diferentes genes de virulencia, que están agrupados en las llamadas islas de patogenicidad (SPIs). Si bien existen más de 14 SPIs, la presencia de cada una de ellas varía dependiendo de la serovariedad de *SALMONELLA*; sin embargo, cinco de ellas (SPI-1 a SPI-5) son comunes en el cromosoma de todas las serovariedades de *S. enterica*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia de 10 genes de virulencia en aislamientos de *S.* ser. Typhimurium obtenidos en la producción porcina de Argentina durante los años 2016-2018.

Materiales y Métodos: Se analizaron 17 aislamientos de *SALMONELLA* ser. Typhimurium, una de las serovariedades más aislada de la producción porcina. Doce de estos aislamientos provenían de granjas de producción porcina (6 de producción intensiva y 6 de producción familiar) y los 5 restantes fueron obtenidos a partir de órganos internos de cerdos sacrificados en el matadero .Se determinó la presencia de 10 genes de virulencia mediante PCR:*avrA, ssaQ, mgtC, siiD, sopB, gipA, sodC1, sopE1, spvC* y *bcfC*). Seis de estos genes (*avrA, ssaQ, mgtC, siiD* y *sopB*) están localizados en las islas de patogenicidad, tres (*gipA, sodC1* y *sopE1*) se ubican en profagos, el gen *spvC* en el plásmido de virulencia de *SALMONELLA* y el gen *bcfC* se ubica en cluster fimbrial.

Resultados: Todos los aislamientos presentaron los genes *sopB*, *ssaQ*, *mgtC*, *avrA* y *siiD* seleccionados como marcadores de SPI-1 a SPI-5. Respecto a los genes asociados a los profagos *sodC1* se detectó en todos los aislamientos; *gipA* en 8 (47%) y *sopE* en 3 (17,64%). El gen *bcfC*, ubicado en el cluster fimbrial, se detectó en 16 aislamientos (94%) y el gen *spvC*, muchas veces considerado indicador del plásmido de virulencia se encontró en 7 (41,17%) de los aislamientos de *SALMONELLA* considerados. No se observó relación entre la presencia de un gen determinado y el tipo de producción u origen del aislamiento.x

Conclusiones: En los últimos años, además de considerar la serotipificación de *SALMONELLA* según sus antígenos somáticos, flagelares y capsulares, se ha incorporado el análisis de la presencia de distintos genes asociados a distintos factores de virulencia de los aislamientos. Este enfoque, denominado virulotipificación, complementa la información y conocimiento epidemiológico de las cepas circulantes de *SALMONELLA*. Asimismo, también brinda información sobre el potencial patógeno de las cepas presentes en la producción y su riesgo asociado.

VI 141

1013 - ANÁLISIS DE POSIBLES FUENTES DE INFECCIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN TIERRA DEL FUEGO

BONINO, Maria Paz [1] | CUNDON, Cecilia[1] | BROGLIO, Alicia[1] | VASQUEZ PINOCHET, Sandra[1] | PETRINA, Juan Facundo[2] | DISALVO, Vilma[3] | BLANCO CRIVELLI, Ximena[1] | BENTANCOR, Adriana[1]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES; FACULTAD DE CS VETERINARIAS; MICROBIOLOGIA [1]; MINISTERIO DE SALUD DE TIERRA DEL FUEGO [2]; LABORATORIO DE DIAGNOSTICO DE TIERRA DEL FUEGO [3]

Introducción y Objetivos: La región sur de Argentina, principalmente la provincia de Tierra del Fuego (TDF), se caracteriza por altas tasas de síndrome urémico hemolítico (SUH) y diarreas agudas de la infancia. Ambas patologías se observan comúnmente en niños menores a 5 años y *Escherichia coli*productor de toxina Shiga (STEC) ha sido señalada como etiología frecuente. El objetivo del presente trabajo fue conocer la prevalencia de cepas STEC en fuentes de infección para consumo en TDF.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio epidemiológico observacional transversal durante el período julio 2016-diciembre 2018. Mediante hisopado rectal se muestrearon 368 corderos de 9 estancias de cría, 194 bovinos de cuatro establecimientos ganaderos, 382 esponjados de cuatro áreas diferentes de carcasas ovinas y muestras de 500 g de carne bovina molida de las 93 bocas de expendio minorista de la isla. Todas las muestras fueron analizadas utilizando PCR punto final para determinar stx1, stx2 y rfbO157 (Leotta y col., 2005). Los aislamientos fueron subtipificados (Scheuzt y col., 2012) y se analizó la presencia de factores de virulencia adicionales eae y ehxA.

Resultados: En ovinos la prevalencia de STEC fue de 26,63% y se aislaron 12 cepas STEC cuyos perfiles genotípicos fueron: stx1c/stx2b/ehxA (3/12), stx1c/stx2b (2/12), stx1c/ehxA (3/12), stx2b/ehxA (2/12) y stx1c (2/12). Sus serotipos correspondieron a O70:NM, O81:[H21, NM], O102:H6, O128ab:H2, O174:[H8, NM]. En bovinos la prevalencia de STEC fue del 15% y se obtuvieron 13 aislamientos con los perfiles: stx2a/ehxA (2/13), stx2c/ehxA (3/13), stx1a/ehxA (1/13) y stx2c (7/13). Sus serotipos fueron: O1:H21, O113:H21, O174:H28, O178:H19, O179:H8, O185:H7. En carcasas la prevalencia de STEC fue 4,71%, obteniéndose 5 aislamientos. El perfil de virulencia observado fue stx2b (3/5), stx1c (1/5) stx1c/stx2b/ehxA (1/5). El serogrupo O157 se detectó por inmunocromatografía en un 1,57% de las carcasas ovinas (6/382) y en 2,15% (2/93) de la carne bovina molida.

Conclusiones: Pese a las elevadas tasas de diarreas y SUH en la región no se detectaron las cepas más virulentas circulantes en el área continental del país. Se debe considerar que los eventos de riesgo conjugan varios factores y existe una potencial virulencia en todas las cepas STEC. Debido al estilo ganadero y climático de la región no podemos descartar la contaminación ambiental como principal fuente de infección, por ello se ha iniciado su análisis.

VI 142

0795 - INFLUENCIA DE LA PRESENCIA DE MONENSINA EN LA ADSORCIÓN DE AFB_1 SOBRE LEVADURAS VIABLES E INACTIVAS

RODRIGUEZ, Marina Celeste [1] | MAGNOLI, Alejandra[2] | MONGE, Maria Del Pilar[1] | CHIACCHIERA, Stella[1]

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO. [1]; DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC) [2]

Introducción y Objetivos: En la avicultura dedicada a la producción de carne, se practica la administración de diferentes dietas a lo largo de la vida de las aves en función de las necesidades nutritivas de las mismas. Estas dietas, basadas generalmente en maíz y harina de soja, son suplementadas con diferentes aditivos, para mejorar los parámetros productivos y reducir la relación costo/beneficio. Dichos parámetros son afectados por la presencia de aflatoxina B_1(AFB_1), presente como contaminantes en la materia prima empleada en la elaboración del alimento balanceado. Dentro de los métodos de control y prevención de micotoxicosis, recientemente se ha profundizado el estudio y empleo de diferentes sustancias que secuestran la toxina en el tracto gastrointestinal formando complejos insolubles que se eliminan con las heces. Sin embargo, estos adsorbentes actúan sin selectividad secuestrando otros nutrientes o moléculas importantes de las dietas como la monensina sódica (MON), agente coccidiostático, generando diversos problemas. La incorporación de levaduras a las dietas ha demostrado ser eficaz en la prevención de las aflatoxicosis, ya que son capaces de adsorber AFB_1 mediante su interacción con los componentes de la pared celular. Estudios in vitro previos demostraron que la presencia de metionina reduce 1/3 la capacidad de levaduras nativas viables del ambiente aviar para adsorber niveles naturales de AFB_1 por. El objetivo de este trabajo fue establecer si la presencia de MON influye sobre la capacidad de adsorción de AFB_1 de *P. kudriavzevii* viables (LV) e inactivas (LI).

Materiales y Métodos: La AFB_1 fue producida por fermentación de arroz estéril a partir de una cepa de referencia A. parasiticus NRRL 2999, extraída con cloroformo y purificada por cromatografía flash. Para evaluar la adsorción se realizaron isotermas de adsorción de AFB_1 con 10^7células/ml en presencia y ausencia de MON, a pH 2 y 6, a 37ºC para simular las condiciones gastrointestinales. La adsorción fue estimada comparando la

cantidad de AFB_1 en el sobrenadante antes y después de la incubación. La cuantificación se realizó por HPLC con detector de fluorescencia. El espesor de la pared celular se determinó utilizando microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Resultados: Los estudios de las isotermas de adsorción mostraron un comportamiento de tipo Hill, dicho modelo asume un mecanismo de adsorción en el que la unión del sustrato en un sitio de una macromolécula, influye otros sitios de unión en la misma macromolécula. La termólisis de las células no afectó el mecanismo de adsorción de la levadura. La presencia de MON aumentó la capacidad de adsorción de levadura para AFB_1. De acuerdo al TEM, se observó un aumento en el espesor de la pared celular luego del tratamiento térmico que explicaría el incremento en la capacidad de adsorción de AFB_1 de la LI.

Conclusiones: Estos resultados demuestran el potencial uso de estos bioadsorbentes evaluados para el control de aflatoxinas en alimento de pollos parrilleros.

VI 143

0868 - *STENOCARPELLA MAYDIS* UN PELIGRO EMERGENTE ASOCIADO AL MAÍZ Y AL GANADO BOVINO-OVINO. PRIMER REPORTE DEL EFECTO DE LAS MICOTOXINAS EN MODELOS ANIMALES EN ARGENTINA

POO, Juan Ignacio [1] | RIAL, Clara[1] | POLIZZI, Paula[2] | ERREGUERENA, Ignacio Antonio[1] | DA SILVA, Paulo Roberto[3] | GERPE, Marcela[4]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA, ESTACION EXPERIMENTAL BALCARCE [1]; TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MARINAS. FCEYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLAT [2]; UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO [3]; TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MARINAS. FCEYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLAT [4]

Introducción y Objetivos: *Stenocarpella maydis*, principal hongo patógeno del maíz, causa diplodiosis, neuromicotoxicosis que afecta al ganado que pastorea en rastrojo o maíz diferido infectado. Se presenta en Sudáfrica, Australia, Brasil y Argentina. En cultivos in vitro se aislaron micotoxinas (diplodiatoxina, diplonina, categlobosinas). En animales de experimentación se probaron efectos variados (enzimas hepáticas ALAT y ASAT, disminución de la AChE, menor ganancia de peso, ataxia, parálisis e incluso la muerte). También afecta al sistema antioxidante, aumentando la peroxidación de lípidos de membrana (LPO). Desde el primer reporte en Argentina (2005) el INTA Balcarce atendió 37 casos con morbilidad (6.2%), mortalidad (1.8%) y letalidad (29.6%). Las micotoxinas en alimentos pueden ser nocivas para la salud. El objetivo fue evaluar preliminarmente la toxicidad de cepas sometidas a estrés por frío en ratones, analizando estrés oxidativo.

Materiales y Métodos: Con 2 maíces infectados por *S. maydis*; fueron crecidos cultivos monospóricos en medio de arroz 8 semanas como condición para la producción de toxinas. Se generaron 4 cultivos, 2 con estrés por frío (Sm4F; Sm5F) y 2 sin él (Sm4-28; Sm5-28), y 4 extractos al 7%. Se detectó el patrón de toxinas mediante TLC y HPLC. Se inocularon aleatoriamente 36 ratones (Mus musculus) machos (Cepa CF1) con los 4 extractos (CICUAE n°149/2018), 10 días cada 48 hs y 2 controles (solución fisiológica y solventes). Se usó el crecimiento relativo para la comparación de los pesos. Se eutanasiaron y se diseccionaron hígado y riñón. La determinación de LPO fue mediante el análisis de Especies Reactivas al Ác. Tiobarbitúrico (TBARS). Se chequeó la homosedasticidad (test de Levene), y se realizaron comparaciones mediante ANOVA con test post hoc Tukey modificado, o Kruskall-Wallis (significación 5%).

Resultados: TLC: presencia de diplonina en los 4 extractos, con mayor intensidad de bandas Sm5-28 y Sm4-F. HPLC: categlobosina K y diplosporina a tiempos de retención (tr) 31 y 12min, respectivamente, con tr 31 en los 4 extractos y tr 12 en Sm4. Los ensayos Sm5-28 y Sm4-F mostraron un patrón de crecimiento similar sin ganar peso hasta el quinto día. El hígado no presentó diferencias significativas en los niveles de TBARs para ningún tratamiento vs los controles. El riñón presentó concentraciones de 962 y 1174 µmol/mg en Sm5-28 y Sm4-F, mostrando diferencias significativas con los controles (874 y 604 µmol/mg).

Conclusiones: Extractos con un patrón de metabolitos diferente, por cepa y temperatura, con mayor concentración de diplonina en Sm5-28 y Sm4-F. Los niveles superiores de TBAR en riñón para Sm5-28 y Sm4C-F podrían sugerir daño asociado a micotoxinas, quizás diplonina, y mostrando una relación órgano-dependiente. Primer ensayo preliminar hecho en Argentina para evaluar el efecto de las micotoxinas de S. maydis en animales de laboratorio. Falta un largo camino para confirmar efectos en el hombre, pero los resultados constituyen una alarma.

VI 144

0757 - CARACTERIZACION MOLECULAR DE *ESCHERICHIA COLI* PATOGENICA AVIAR (APEC) AISLADA DE ORGANOS DE GALLINAS PONEDORAS DE PRODUCCION INTENSIVA

GONZALEZ, Ramon Alejandro | VELILLA, Alejandra | TERZOLO, Horacio

INTA BALCARCE, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL, GRUPO DE SANIDAD ANIMAL

Introducción: La colibacilosis aviar es una enfermedad entero-septicémica de las aves causada por cepas de *Escherichia coli* patogénica aviar (APEC) que se caracteriza por producir diversas lesiones dependiendo del grado de virulencia de las cepas, de la inmunidad del ave y de la asociación con otros agentes infecciosos. Es una enfermedad importante para la industria avícola ya que causa mortalidad y pérdidas económicas; actualmente se sabe que algunas cepas aviarias son importantes en salud pública. Los genes de virulencia (GV) detectados en los aislamientos de APEC incluyen fimbrias, sistemas quelantes de hierro, factor de supervivencia en suero y toxinas, entre otros. Si bien las APEC aisladas de distintos países han sido bastante estudiadas, se carece de suficiente información sobre la caracterización de las cepas que circulan en la Argentina. El objetivo de este trabajo es comunicar el hallazgo de un aislamiento de APEC asociado a un caso de colibacilosis en gallinas ponedoras de producción intensiva de Argentina.

Caso Clínico: Se recibieron muestras de hígado, bazo, corazón, saco aéreo y óvulos provenientes de un lote de aves que presentaba mortandad y lesiones en los ovarios. Dicho lote no había sido tratado con antibióticos (ATB) y había recibido el plan de vacunación habitual para ponedoras que no incluyo la vacuna contra E. coli. Mediante análisis bacteriológico se descartó que dichas lesiones fueran ocasionadas por Salmonella enterica. El aislamiento fue identificado como *E. coli* mediante la morfología de las colonias no hemolíticas en agar MacConkey, las pruebas bioquímicas estándar de acuerdo con el Manual de Bergey (indol, rojo de metilo, reacción de Voges-Proskauer, citrato, ureasa, producción de gas y ácido sulfhídrico) y la PCR del ARNr 16S. Se caracterizó molecularmente por PCR en base a su perfil de GV, grupo filogenético (GF), resistencia a ATBs y presencia de integrasas clase 1 *intI1* y 2 *intI2*. La resistencia a ATBs fue evaluada por el método de disco-difusión según las recomendaciones del CLSI (2012), empleando la *E. coli* ATCC 25922 como cepa patrón. La cepa de *E. coli* presentó el siguiente perfil de virulencia: $fimA^+$ iss^+ $iucD^+$ $chuA^+$ $east1^+$ sfa^- $hlyA^-$ $papC^-$ afa^- $cnf1^-$ $vt1^-$ $vt2^-$. De acuerdo con la clasificación de Clermont, se determinó que pertenece al GF B2 que incluye a cepas patógenas extraintestinales y presentó sensibilidad a todos los ATB analizados: Ceftiofur 30µg, Colistina 10µg, Florfenicol 30µg, Neomicina 30µg, Gentamicina 10µg, Doxiciclina 30µg. y a Oxitetraciclina 30µg. No se detectó la presencia de los genes *intI1* ni de *intI2* por lo cual se concluye que carece de integrones de dichas clases.

Conclusiones: La caracterización de APEC que aquí se presenta es relevante debido a la importancia de estas cepas para la salud pública y a su posible rol zoonótico debido a la similitud de sus genes de virulencia con cepas de *E. coli* de origen humano causantes de casos clínicos. Asimismo, la información obtenida contribuye a conocer las actuales cepas circulantes en Argentina y al desarrollo e implementación de estrategias tendientes a prevenir y controlar las infecciones de APEC en granjas aves de corral.

VI 145

0813 - EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE LAS CITOQUINAS TNF-ALPHA E IFN-GAMMA EN CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE Y EN CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA DE BOVINOS HOLANDO ARGENTINO INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA

LADERA, Marla [1] | NIETO FARIAS, María Victoria[2] | ÚSUGA MONROY, Cristina[3] | MORÁN, Pedro[4] | VÁTER, Adrián[5] | CERIANI, Maria Carolina[1] | DOLCINI, Guillermina[6]

LAB. DE VIROLOGÍA, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA. UE CIVETAN (CONICET/UNCPBA/CICPBA) [1]; LAB. DE VIROLOGÍA, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA. UE CIVETAN (CONICET/UNCPBA/CICPBA) [2]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, SEDE MEDELLÍN [3]; LAB. DE VIROLOGÍA, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA. UE CIVETAN (CONICET/UNCPBA/CICPBA) [4]; ESCUELA DE EDUCACIÓN SECUNDARIA AGRARIA Nº1 "DR. RAMÓN SANTAMARINA, TANDIL [5]; LAB. DE VIROLOGÍA, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA. UE CIVETAN (CONICET/UNCPBA/CICPBA) [6]

Introducción y Objetivos: El virus de la leucosis bovina (BLV) es un retrovirus que afecta a los bovinos principalmente de raza lechera. La prevalencia predial e individual de la infección por BLV en Argentina es mayor al 90%, teniendo un gran impacto económico por pérdidas directas e indirectas en la industria láctea. Se ha reportado que el BLV tiene capacidad de alterar la respuesta inmunológica del bovino a nivel sistémico, disminuyendo los niveles de expresión de citoquinas que cumplen funciones de prevenir la progresión de la enfermedad, como es el IFN-gamma característico de la respuesta tipo Th1, y aumentando la expresión de TNF-alpha, la cual tiene actividades de modulación de la apoptosis y proliferación celular. Hasta el momento no existen estudios reportados que evalúen la modulación de estas citoquinas a nivel de células somáticas de la glándula mamaria bovina. Con base a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue detectar el BLV en células somáticas (SC) separadas de la leche y en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de bovinos Holando Argentino, y comparar el nivel de expresión de TNF-alpha e IFN-gamma en ambos tipos celulares.

Materiales y Métodos: Se separaron las SC de la leche y las PBMC de sangre entera, a partir de muestras de 22 bovinos Holando Argentino provenientes de un establecimiento lechero con alta prevalencia de infección de BLV ubicado en el Partido de Tandil, Buenos Aires. La detección viral se realizó por PCR convencional amplificando un segmento del gen pol viral y se determinó la carga proviral por PCR en tiempo real (qPCR) mediante cuantificación absoluta. El nivel de expresión de ARNm de TNF-alpha e IFN-gamma se realizó mediante qPCR (cuantificación relativa, respecto al gen endógeno GAPDH).

Resultados: Se detectó la presencia del BLV en SC y PBMC de los 22 bovinos evaluados. En todos los animales, se encontró menor expresión de TNF-alpha y mayor expresión de IFN-gamma en SC, comparada con la expresión de ambas citoquinas en PBMC. Aunque las diferencias no fueron significativas, dicha expresión de citoquinas se asocia a una baja carga proviral en glándula mamaria y alta carga proviral a nivel sistémico.

Conclusiones: Este trabajo constituye el primer estudio en comparar la expresión de TNF-alpha e IFN-gamma en células sanguíneas y de glándula mamaria en los animales infectados con el BLV, revelando que pueden presentar diferencias en la respuesta celular entre ambos compartimentos celulares, pareciendo ser más eficiente contra el virus a nivel de la ubre. Un mejor entendimiento de esta respuesta celular puede contribuir al diseño de estrategias de control de la infección viral.

VI 146

0981 - DETECCIÓN SEROLÓGICA DE LEPTOSPIROSIS EN CANINOS DEL CONURBANO BONAERENSE

MUNILLA LACASA, Bernardita | IVANISSEVICH, Ana | TEYSSANDIER, Santiago | PAGLIERE, Horacio | MUÑOZ, Alejandra

UNIVERSIDAD DEL SALVADOR

Introducción y Objetivos: La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, mundialmente distribuida, cuya transmisión está ligada a la relación animal-humano-ecosistema. El agente causal es una bacteria que pertenece al orden Spirochaetales, de género *LEPTOSPIRA*. *LEPTOSPIRA INTERROGANS* es patógena para el hombre y para los animales, pudiéndose encontrar en los caninos sin presentar ningún signo clínico, convirtiéndolos en diseminadores de la enfermedad. Actualmente las personas mantienen un contacto sumamente estrecho con sus mascotas, lo que confiere un peligro potencial para los propietarios de adquirir esta patología sin conocimiento de causa. Es por estos motivos que se ha propuesto como objetivo del trabajo realizar un relevamiento serológico en caninos en búsqueda de esta enfermedad para poder establecer si existen sueros reactivos en las zonas estudiadas y detectar potenciales áreas de mayor diseminación de la enfermedad.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio observación de corte transversal exploratorio que comprende barrios de la zona oeste del conurbano bonaerense. Se muestrearon caninos de diferentes razas, sexos y edades, tomando como criterio de inclusión todo canino que ingreso a veterinarias o asistió a castración en centros de zoonosis o habito refugios de la zona estudiada. El criterio de exclusión es todo canino que haya recibido vacunación anti-leptospirosis dentro de los 4 meses previos al muestreo. Las muestras se analizaron mediante la técnica de microaglutinacion (MAT), con los serovares Ballum, Canicola, Icterohaemorragiae, Pomona y Pyrogenes. Se consideraron como positivos aquellos resultados correspondientes a títulos de 1/800 o de 1/400 en animales con sintomatología clínica de la enfermedad. Lo títulos entre 1/100 y 1/400 sin sintomatología, se consideran como reactivos.

Resultados: Se muestreo un total de 251 individuos. El análisis de todas las muestras demostro un porcentaje de reactividad del 29,7% (75 muestras). No se encontraron resultados positivos con títulos de 1/800. 3 muestras mostraron títulos de 1/400 para serovar Canicola e Icterohaemorragiae, pero los individuos no presentaban signos clínicos, por lo tanto, se los considero como reactivos. Se encontró reactividad a los 5 serovares analizados; 15 muestras a Ballum, 41 a Canicola, 16 a Icterohaemorragiae, 11 a Pomona y 4 a Pyrogenes. Algunas muestras resultaron reactivas a más de un serovar.

Conclusiones: Se encontró casi un 30% de caninos con reactividad a la enfermedad. Los resultados reactivos se podrían explicar como consecuencia de un contacto con el agente o vacunaciones (si el serovar reactivo estaba incluido en la vacuna) a dosis repetidas previas a los 4 meses anteriores a la toma de muestra. Es importante destacar que se encontró reactividad a los serovares Ballum, Pomona y Pyrogenes que no son los mas frecuentes en caninos, pero si en otras especies tanto domesticas como silvestres.

VI 147

0952 - EFECTOS RUMINALES Y PRODUCTIVOS DEL EXCESO DE AZUFRE DIETÉTICO EN BOVINOS DE ENGORDE A CORRAL

CASTRO, Damián[1] | CERÓN CUCCHI, María Esperanza[2] | ORTIZ CHURRA, Abimael[2] | DEPETRIS, Gustavo[3] | IRAZOQUI, José Matías[4] | AMADIO, Ariel[4] | **CRAVERO, Silvio** [5] | CANTÓN, Germán[3]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA - MARCOS JUÁREZ [1]; INSTITUTO DE PATOBIOLOGÍA VETERINARIA, CICVYA, (INTA-CONICET) [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA, ESTACION EXPERIMENTAL BALCARCE [3]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA-EEA RAFAELA /CONICET [4]; IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [5]

Introducción y Objetivos: El azufre (S) es un mineral esencial para el óptimo desempeño productivo en los bovinos, requiriendo 0.2% (referido a materia seca (MS)) de S dietético total. Si se supera el aporte de 0.3%, el animal puede sufrir polioencefalomalacia (PEM) con perjuicios sobre el desempeño productivo. En Argentina se ha difundido la inclusión de granos de destilería (GD) en las dietas de engorde a corral (EC). Los GD suelen presentar altas concentraciones de S. Otra potencial fuente de S es el agua de bebida de los rodeos (usualmente como sulfatos). En los últimos años se han registrado problemáticas productivo-sanitarias en bovinos de EC, compatibles con las causadas por exceso de S dietético, asociadas al consumo de GD y/o agua con altas concentraciones de sulfato. El exceso dietético de S es transformado en sulfuro de hidrógeno (H_2S) por bacterias ruminales reductoras de sulfato (BS) (*Desulfubulbus* sp. y *Desulfovibrio* sp.). En este trabajo se evaluaron los efectos a nivel de ambiente ruminal y productivos en bovinos de EC experimentalmente sometidos a exceso de S dietético.

Materiales y Métodos: El ensayo tuvo 37 días de duración. Se utilizaron 12 terneros cruza Angus y Hereford, con peso vivo inicial promedio de 268 ± 13 kg, donde se les asignó aleatoriamente uno de los dos tratamientos propuestos (6 repeticiones para cada uno): 0.19% (BS, dieta control) y 0.39% (AS, dieta control con 0.86% de SO_4Na_2) de S dietético (expresado como porcentaje de MS). Las dietas fueron iso-energéticas e iso-proteicas. Los animales recibieron agua y alimento ad libitum, obteniéndose las medias del consumo diario de MS, aumento diario de peso y conversión alimenticia de cada animal. En el último día del ensayo (día 37) se tomaron muestras de contenido ruminal para el estudio de la microbiota ruminal, parámetros fermentativos y gas ruminal. Mediante qPCR se cuantificaron las concentraciones de Bacterias Totales (BT), tres grupos de BS (G1, G2 y G3) y arqueas metanogénicas. Se realizó el análisis de la composición microbiana del contenido ruminal mediante secuenciación de alto rendimiento (Illumina MiSeq) utilizando al gen del 16S ARN ribosomal como marcador. Todos los parámetros se evaluaron mediante pruebas t para muestras independientes.

Resultados: Los bovinos del grupo AS no presentaron alteraciones en las concentraciones de BT ($p=0.14$), G1 ($p=0.18$), G2 ($p=0.70$), G3 ($p=0.18$), metanógenos ($p=0.92$), como tampoco en la diversidad y estructura de su microbiota ruminal bacteriana, desempeño productivo ni parámetros fermentativos. Se observó un incremento significativo en la concentración de H_2S ruminal ($p<.01$), sin manifestaciones clínicas de PEM en los animales que consumieron exceso de S.

Conclusiones: El microbioma ruminal se mostró resiliente al exceso de S en las condiciones del ensayo, no afectándose el desempeño productivo. La mayor producción de H_2S se podría deber a un incremento en la actividad de la capacidad metabólica de los grupos bacterianos productores de H_2S o bien la presencia de grupos bacterianos que intervienen en la reducción de sulfato no caracterizados al presente.

VI 148

1017 - ESTUDIO DE LA INDUCCIÓN DEL ESTADO ANTIVIRAL PRODUCIDO POR EL IMPACTO DE LOS BACULOVIRUS EN EL SISTEMA INMUNE DE MAMÍFEROS

MOLINA, Guido Nicolás [1] | OTERO, Ignacio[2] | GRAVISACO, María José[1] | AMALFI, Sabrina[1] | GISMONDI, María Ines[1] | TABOGA, Oscar[1] | MOLINARI, María Paula[1]

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS [2]

Introducción y Objetivos: Los baculovirus son una familia de virus de ADN que infectan insectos. Resultados de nuestro grupo mostraron que la administración de baculovirus de la especie *Autographa californica multiple nucleopoliedrovirus* (AcMNPV) en ratones conduce al establecimiento de un estado antiviral que permitió otorgar protección inespecífica contra un desafío con virus de la fiebre aftosa (FMDV, del inglés *foot and mouth disease virus*) a las 3 horas y a los 3 días post-inoculación. Debido a la velocidad de propagación del FMDV y a que la vacuna utilizada otorga protección a partir del séptimo día, hay una búsqueda de estrategias antivirales que permitan proteger animales a tiempos cortos. De esta manera, en este trabajo se propuso estudiar los mecanismos inmunológicos involucrados en la inducción del estado antiviral contra FMDV por AcMNPV en el modelo murino, evaluar si es posible emplear esta estrategia en cerdos y optimizar su impacto mediante la construcción de baculovirus recombinantes.

Materiales y Métodos: Ratones C57BL/6 WT, ratones IFNAR1^{-}/-, y ratones depletados de células NK fueron inoculados con $5x10^7$ UFP de AcMNPV 3 días antes de un desafío con FMDV. Se evaluó sobrevida, signos clínicos e interferones (IFN) en suero. Para realizar estudios *ex vivo* en cerdos, células de sangre periférica (CMSP) porcinas fueron tratadas con AcMNPV en distintas concentraciones por 16 horas para evaluar IFNs en el sobrenadante. Para estudiar los efectos *in vivo*, 5 cerdos de 9 semanas de edad fueron inoculados con $1x10^9$ UFP de AcMNPV y se evaluaron IFNs en suero a distintos tiempos. Además, se construyeron baculovirus enriquecidos en motivos CpG para cerdos (Ac-pCpG) y baculovirus pseudotipados con la glicoproteína G del virus de la estomatitis vesicular (Ac-GVSV) y se compararon sus efectos con el de AcMNPV WT en cuanto a producción de IFN en CMSP.

Resultados: Los resultados obtenidos en ratones mostraron que los efectos de los interferones (IFN) de tipo I son necesarios para inducir protección y que las células NK son requeridas tanto para la producción de IFN-g como para evitar la manifestación de la enfermedad en este modelo. Por otro lado, se demostró que los BVs

son capaces de inducir actividad antiviral mediada por IFN-a en CMSP de cerdo. Además, se detectó por citometría de flujo la producción de IFN-a en células dendríticas plasmocitoides ($CD14^-$ $CD172a^{low}$ $CD4^+$) y de IFN-g por células linfoides $CD3^-$. Al inocular cerdos in vivo se observaron picos de producción de IFN-a y actividad antiviral contra FMDV durante las primeras 6 horas post-inoculación. Finalmente, se estudió el efecto de los virus recombinantes y se observó que al utilizar Ac-GVSV hubo un aumento significativo en la producción de IFN-a ($p<0,05$).

Conclusiones: Los resultados presentados sugieren que los baculovirus son un promisorio agente para desarrollar estrategias antivirales en mamíferos y, más específicamente, para la contención de brotes de fiebre aftosa en cerdos.

CAM - Virología básica

VI 149

0837 - FACTOR INHIBIDOR DE LA MIGRACIÓN DE MACRÓFAGOS (MIF) EN LA INFECCIÓN POR EL VIRUS LINFOTRÓPICO T HUMANO DE TIPO 1 (HTLV-1)

BENENCIO, Paula | TRIFONE, César Arielk | DUCASA, Nicolás | BIGLIONE, Mirna | TURK, Gabriela | BERINI, Carolina

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS EN RETROVIRUS Y SIDA (INBIRS)

Introducción y Objetivos: Introducción: El virus linfotrópico T humano de tipo 1 (HTLV-1) es un deltaretrovirus que infecta aproximadamente 10 millones de personas alrededor del mundo. Es el agente etiológico de la mielopatía asociada al HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP) y de la Leucemia/linfoma de células T del adulto (ATLL). Se estima que entre el 2 y el 5% de los individuos infectados desarrollarán una de las dos patologías. El Factor Inhibidor de la Migración de Macrófagos (MIF) es una citoquina que regula un amplio rango de respuestas inmunes pro-inflamatorias y ha sido implicado en el desarrollo de muchas patologías de origen inflamatorio como son lupus, la diabetes de tipo II, varios tipos de cáncer e infecciones virales como el HIV-1. Objetivos: El objetivo de este trabajo es estudiar el rol de MIF en la infección por HTLV-1 tanto in vivo como in vitro.

Materiales y Métodos: Métodos: Se realizaron ensayos de ELISA para detección de MIF en muestras de plasma de 20 individuos asintomáticos (IA), 20 individuos con ATLL, 20 individuos con HAM/TSP y 15 donantes sanos (DS). En células MT2, se utilizó un anticuerpo neutralizante anti-MIF y un agonista químico de MIF a fin de bloquear su señalización. La expresión de Tax fue evaluada mediante citometría de flujo a las 24, 48, 72 y 96 horas post-tratamiento. Para analizar la respuesta dosis-dependiente del agonista, se utilizaron diluciones seriadas al medio del agonista químico en un rango entre 200 nM a 3.125 nM, como estímulo de las células MT2 durante 96 horas, luego de lo cual se analizó la expresión de Tax mediante citometría de flujo.

Resultados: Resultados: Los niveles de MIF en plasma fueron significativamente más altos en todos los grupos de individuos HTLV-1+ con respecto a los DS (media= 2.197 ng/ml). El grupo con mayor concentración de MIF fue el de los IA (media= 60.04 ng/ml; p=0.0003 vs DS), seguidos de aquellos con diagnóstico de ATLL (media= 55.05 ng/ml; p=0.001 vs DS) y por último aquellos con diagnóstico de HAM/TSP (media= 19.84 ng/ml; p=ns). La neutralización de la actividad biológica de MIF en un cultivo de células MT2 resultó en una reducción del 41% en la expresión de Tax a las 96 horas post-tratamiento con el agonista de MIF, en comparación al control (p=0.0138). Una reducción menor (14%), y no significativa, se observó al utilizar el anticuerpo neutralizante de anti-MIF. En cuanto a la curva de dosis-respuesta, se encontró una tendencia con correlación negativa entre la concentración de agonista y la concentración de Tax.

Conclusiones: Conclusiones: La concentración de MIF en plasma de individuos infectados con HTLV-1 fue significativamente mayor que en el grupo de DS, especialmente en el caso de los IA, lo que indicaría un posible rol de MIF en la infección por HTLV-1. Los resultados in vitro sugieren que MIF podría estar regulando positivamente la expresión de genes virales y, en consecuencia, la replicación viral. Dicho efecto sería dependiente de la dosis de esta citoquina, contribuyendo así a la patogénesis de la infección.

VI 150

0869 - POSIBLE ORIGEN DE LOS VIRUS DE INFLUENZA EQUINA FLORIDA CLADO 1 Y FLORIDA CLADO 2

MOJSIEJCZUK, Laura Noelia [1] | CAMPOS, Rodolfo Hector[2] | MIÑO, Orlando Samuel[3]

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, CÁTEDRA DE VIROLOGÍA / CONICET [1]; UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, CÁTEDRA DE

VIROLOGÍA / CONICET [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA), INSTITUTO DE VIROLOGÍA. [3]

Introducción y Objetivos: El virus de Influenza equina (VIE) es el agente causal de la gripe equina. Posee un genoma de 8 segmentos de ARN de simple cadena de polaridad negativa y se clasifica en subtipos de acuerdo con la secuencia nucleotídica de dos proteínas de superficie: H (hemaglutinina) y N (neuraminidasa). Desde 1979, H3N8 es el único subtipo circulante en equinos, aunque también ha sido detectado en aves, camélidos y caninos. Desde el año 2003 las infecciones a en todo el mundo son causadas por cepas de VIE Florida Clado 1 (FC1) y Florida Clado 2 (FC2). El principal mecanismo de evolución de los VIE es la mutación puntual, dando lugar a un proceso progresivo de deriva antigénica. Sin embargo, estos virus pueden además experimentar reasociación de segmentos, un mecanismo que genera cambios profundos en las poblaciones virales. Un estudio previo de nuestro grupo de trabajo basado en el análisis filogenético del genoma viral completo, evidenció que 7 de los 8 segmentos genómicos del sublinaje Florida derivan de un ancestro común circulante a principios de los 2000. En cambio, la proteína MP presenta una filogenia diferente a los demás fragmentos genómicos, sugiriendo un posible origen polifilético de este segmento en FC1 y FC2. El objetivo de este trabajo es determinar el origen de los FC1 y FC2 basados en el estudio de la proteína MP.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron todas las secuencias de los 8 segmentos genómicos de los VIE H3N8 disponibles en la base de datos GenBank. Las mismas se analizaron filogenéticamente por el método de Máxima Verosimilitud y por metodología bayesiana. Además, se realizó la evaluación de las presiones selectivas sobre las filogenias en el servidor online Datamonkey.

Resultados: La filogenia muestra que la proteína MP presente en FC2 pertenece al linaje Euroasiático que circulo en equinos durante los '90s, con soporte estadístico en ambos métodos utilizados. En este grupo también se incluyeron secuencias de MP de IEV H3N8 obtenidas en aislamientos de cerdos en Asia durante 2005-2006. Los reportes de la circulación concomitante de los linajes Euroasiático y Florida, constituye evidencia de un contexto ecológico favorable y, apoya la hipótesis de la ocurrencia del evento de reasociación interlinaje. Se evidenció un cambio en el tipo de evolución en la rama ancestral del linaje FC2 en todos los segmentos genómicos, incluyendo un aumento en la tasa de sustitución y presencia de selección positiva. Esto soporta la idea de que FC2 se generó por un evento evolutivo drástico como ser una reasociación de segmentos.

Conclusiones: En conclusión, el FC2 es resultado de una reasociación interlinaje que involucra al segmento MP del linaje Euroasiático y los demás segmentos del sublinaje Florida. El reacomodamiento de la constelación genómica luego de incorporación de la MP al fondo genético del sublinaje Florida, pudo ser el causal de la divergencia las poblaciones que se posteriormente se establecieron como FC1 y FC2.

VI 151

0908 - RESPUESTA ANTIVIRAL DE INTERFERÓN EN CÉLULAS HEK293 PERSISTENTEMENTE INFECTADAS CON EL ARENAVIRUS JUNÍN

ARMIENTO, María Nieves | SCOLARO, Luis Alberto

IQUIBICEN

Introducción y Objetivos: Los interferones (IFNs) son una familia de citoquinas que juegan un papel clave en la respuesta inmune como potentes agentes antivirales. Suprimen la replicación del virus de forma directa e indirecta por inducción y regulación de la activación de células involucradas en la respuesta inmune innata y adaptativa. La ARN helicasa RIG-I es uno de los receptores celulares capaces de reconocer y unirse a los ácidos nucleicos virales, lo cual desencadena una cascada de señalización que lleva a la activación de factores de transcripción como los de la familia del factor regulador del interferón (IRF) (se fosforilan y traslocan al núcleo), un proceso que resulta en la síntesis de interferón de tipo I (IFN-I). Los virus pertenecientes a la familia Arenaviridae son capaces de manipular el sistema inmune de sus hospedadores, lo que les permite establecer infecciones persistentes que les posibilitan perpetuarse en la naturaleza. Asimismo, in vitro desarrollan con facilidad infecciones persistentes en los cultivos que infectan. El objetivo de este trabajo es caracterizar la respuesta antiviral de IFN en células HEK293 (riñón fetal humano) persistentemente infectadas con el arenavirus Junín (JUNV).

Materiales y Métodos: La producción de IFN en cultivos persistentemente infectados se indujo por sobreinfección con JUNV o infección con virus dengue serotipo 2 (DENV-2), y por tratamiento con Poly I:C (análogo sintético de ARN doble cadena). El efecto de la inducción de IFN en la expresión de RIG-I y la activación de IRF-3 se analizó a través de un ensayo de western blot e inmunofluorescencia indirecta.

Resultados: En estudios previos se reportó que las células HEK293 persistentemente infectadas con JUNV (denominadas 2933) sólo produjeron bajos niveles de IFN en el inicio de la etapa persistente. Resultaron refractarias a la sobreinfección con JUNV sin producir IFN, mientras que al utilizar DENV-2 como inductor, las células 2933 produjeron IFN con títulos similares a los obtenidos en las células 293 infectadas con el mismo virus. Por otro lado, las células 2933 resultaron protegidas frente al desafío con el virus de la estomatitis vesicular (VSV) cuando se trataron con IFN beta comercial pero no así con Poly I:C. En este trabajo se

demuestra que las células 2933 tratadas con Poly I:C generan una mayor expresión de RIG-I en comparación con las mismas células sin tratar. Con respecto a la activación de IRF-3, las células 2933 presentan una mayor traslocación de dicho factor de citoplasma a núcleo en comparación con las mismas células sin infectar, lo cual indicaría que durante la etapa de persistencia viral, una mayor proporción de IRF-3 se encontraría traslocado en el núcleo. No obstante, dicha traslocación no se incrementa con un tratamiento con Poly I:C o una sobreinfección/infección con JUNV o DENV-2.

Conclusiones: En las células HEK293 persistentemente infectadas con JUNV la traslocación de IRF-3 no es una condición suficiente para inducir el estado antiviral mediado por la síntesis de IFN.

VI 152

0920 - LA EXPRESIÓN DE LA NUCLEOPROTEÍNA DEL VIRUS JUNÍN DISMINUYE EL CONTENIDO TOTAL DE LIPID DROPLETS CELULARES

VAZQUEZ, Cecilia Alejandra [1] | HAYASHI, Jennifer[2] | LEON, Kristoffer[2] | PAULO MOREIRA, Joao[1] | TOMAR, Sakshi[2] | OTT, Melanie[2] | GARCIA, Cybele[1] | CORDO, Sandra[1]

IQUIBICEN [1]; GLADSTONE INSTITUTES [2]

Introducción y Objetivos: Las gotas lipídicas o (LD) son organelas actualmente descriptas como relevantes en la multiplicación de diferentes virus, tales como los virus dengue, hepatitis C y polio, aunque inicialmente se las consideró simples sitios de almacenamiento de lípidos. El virus Junín (JUNV) es el agente causal de la Fiebre Hemorrágica Argentina. Si bien existe una vacuna, todavía no hay una quimioterapia disponible para tratar esta enfermedad. JUNV es un virus envuelto que está conformado por cuatro proteínas: la nucleoproteína (N), asociada al genoma de ARN simple cadena, la ARN polimerasa (L), la proteína de matriz (Z) y la glicoproteína (G). En trabajos anteriores hemos observado que la modulación farmacológica de la biogénesis de los LD afecta los niveles de replicación viral. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la multiplicación viral sobre el número y tamaño de LD.

Materiales y Métodos: Para ello, se trabajó con las líneas celulares de hepatoma humano HepG2 y Huh.7, JUNV cepa IV4454 o vectores lentivirales que codifican para N, Z o G, fusionados a la secuencia Flag. Los cultivos celulares fueron infectados o transducidos por 48 horas. En el caso de las muestras infectadas, se realizó una inmunomarcación utilizando un anticuerpo monoclonal contra N. Para las muestras transducidas, se utilizó un anticuerpo anti-Flag. Los LD se marcaron con la sonda o alternativamente con anti-perilipina 2, la proteína marcadora de LD. Mediante microscopía confocal de alta resolución se tomaron microfotografías de campos aleatorios. Utilizando imágenes en distintos planos focales y por medio del software se realizaron reconstrucciones tridimensionales de cada célula y sus componentes. Se calculó el número y volumen de los LD por célula y se analizó la localización de las proteínas virales.

Resultados: En el presente trabajo demostramos que JUNV provoca una disminución significativa en el número de LD en aquellas células infectadas respecto de las no infectadas. Mediante la expresión independiente de las proteínas virales observamos que N es capaz de producir este efecto en el contenido de LD, en ausencia del resto de los componentes virales. En cambio, la expresión de Z no generó diferencias significativas respecto del control.

Conclusiones: Estos resultados nos permiten concluir que N juega un rol importante en la modulación de los LD durante la infección, aunque todavía no puede descartarse la relevancia de otros componentes virales. Este rol no sería dependiente de una interacción directa con esta estructura. Los factores que pudieran mediar la interacción entre N y los LDs están actualmente siendo estudiados para determinar la relevancia funcional de la disminución de los LD en células infectadas con JUNV.

VI 153

0926 - MODELO EPIDEMIOLÓGICO ESTOCÁSTICO DE BROTES DEL VIRUS ZIKA

GUALTIERI, Ariel Félix | DE LA CAL, Carolina | HECHT, Juan Pedro

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, CÁTEDRA DE BIOFÍSICA Y BIOESTADÍSTICA

Introducción y Objetivos: Los modelos epidemiológicos son diseños formales que permiten capturar el comportamiento de propagación de enfermedades, mediante la representación matemática de los procesos que regulan la dinámica de epidemias. De esta manera, pueden brindar tendencias sobre la influencia de ciertos factores de interés relacionados con la problemática abordada, en escenarios en donde la exploración directa no siempre resulta factible. El abordaje formal de los modelos de propagación de epidemias se fundamenta en dos elementos: [1] la población se divide en diferentes categorías, de acuerdo a los distintos estadios de la enfermedad en estudio; [2] se formula matemáticamente la evolución temporal de los individuos en cada una de

estas categorías. Por ejemplo, en el clásico esquema SIR la población es dividida en susceptibles (S), infectados (I) y recuperados (R). De acuerdo a este agrupamiento, las transiciones S-I (infección) e I-R (recuperación), son definidas matemáticamente en función de tiempo. Los modelos estocásticos, a diferencia de los que plantean un enfoque determinista, permiten incorporar efectos aleatorios dentro del escenario representado. El Zika es un arbovirus, cuya principal vía de transmisión en humanos es la picadura de insectos vectores: hembras adultas de mosquitos del género Aedes, como Aedes aegypti. La gran complejidad de las enfermedades transmitidas por mosquitos justifica la incorporación de un modelo estocástico. El algoritmo de Gillespie, una variante del método Monte Carlo, es un procedimiento computacional más o menos sencillo que permite la incorporación de efectos estocásticos en modelos dinámicos. Objetivo: El objetivo del presente trabajo ha sido desarrollar un modelo estocástico de propagación de brotes del virus Zika, basado en el algoritmo de Gillespie.

Materiales y Métodos: Se diseñó computacionalmente un modelo original, en donde se representó la dinámica de propagación del virus Zika en humanos, combinada con la diseminación en el vector. El modelo incorpora tasas de infección y de recuperación. A su vez, permite representar la movilidad poblacional de seres humanos. El modelo fue estudiado por medio de simulaciones numéricas computacionales.

Resultados: Las simulaciones realizadas muestran el típico comportamiento de una epidemia del virus Zika, en donde la prevalencia se incrementa hasta un pico y luego desciende. A su vez, el modelo muestra como el pico de prevalencia incrementa con el aumento de la tasa de infección en humanos y del número de vectores. Las fluctuaciones entre las distintas simulaciones reflejan los efectos aleatorios incorporados.

Conclusiones: El modelo desarrollado logra una representación cualitativa de la dinámica de propagación del virus Zika, presenta coherencia interna, permite incorporar efectos aleatorios en forma sencilla y brindaría un andamiaje formal para explorar la influencia de diferentes factores sobre la evolución de un brote del virus.

VI 154

1000 - DERIVADOS DE 4-AMINO-2-FENILQUINAZOLINA CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL PARA EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA

ESPAÑA DE MARCO, Maria Jose[1] | FABIANI, Matias[1] | ROSAS, Rocio Ayelen[1] | FERNANDEZ, Gabriela Araceli[2] | BOLLINI, Mariela[3] | **CAVALLARO, Lucia Vicenta** [1] | CASTRO, Eliana F[1]

CÁTEDRA DE VIROLOGÍA, FFYB, UBA [1]; CONICET, CENTRO DE INVESTIGACIONES EN BIONANOCIENCIAS (CIBION). [2]; CONICET, CENTRO DE INVESTIGACIONES EN BIONANOCIENCIAS (CIBION). [3]

Introducción y Objetivos: El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) es un ARN virus del género Pestivirus (Flaviviridae) cuyas infecciones están distribuidas mundialmente y afectan principalmente al ganado bovino. Su control se basa en la vacunación (no obligatoria) y remoción de animales con infección persistente (fuente principal de virus). El uso de antivirales podría servir como herramienta complementaria de control para reducir las pérdidas económicas causadas por BVDV. Dado que la ARN polimerasa dependiente del ARN (RdRp) viral es esencial para la replicación de BVDV, es un blanco atractivo para el descubrimiento de antivirales. Las Quinazolinas son heterociclos que presentan diferentes actividades farmacológicas, como actividad antiviral, por ejemplo, como inhibidor de la RdRp del virus del Dengue. En el marco de la búsqueda de antivirales para BVDV, seleccionamos una serie de compuestos utilizando la metodología del screening in silico basado en la interacción con la estructura de la RdRp de BVDV (NS5B). Cinco de ellos resultaron activos y el compuesto 1 (CE50= 9,68 ± 0,49 µM), una 4-amino-2-fenilquinazolina , fue elegido para su optimización

Materiales y Métodos: Para mejorar su perfil de actividad antiviral y caracterizar la relación estructura-actividad, se sintetizaron 26 nuevos derivados de 1. Se evaluó la citotoxicidad en células MDBK por el método MTS / PMS y luego la actividad anti-BVDV (NADL) mediante la reducción del efecto citopático viral, determinándose la concentración citotóxica 50 (CC50) y la concentración efectiva 50 (CE50), respectivamente.

Resultados: Hasta el momento, al menos seis derivados presentan una mayor actividad antiviral que el compuesto 1, con valores de CE50 entre 1,37 y 4,57 µ;M y mayor IS. Con el objetivo de confirmar el blanco de acción de estas quinazolinas, uno de los derivados más activos (1.9) fue evaluado frente a dos mutantes resistentes a la 5,6-TSC, un inhibidor no nucleosídico de la RdRp de BVDV. Como resultado, la mutante BVDV R1 (NS5B A392E) fue parcialmente resistente mientras que BVDV R2 (NS5B N264D) fue sensible a la acción del compuesto 1.9 como el virus wt. Si bien el sitio de interacción de las quinazolinas con la RdRp de BVDV no estaría delimitado por dichos aminoácidos, la presencia de la mutación en A392 afectaría su actividad antiviral in vitro, lo cual refuerza los resultados in silico y permitiría confirmar a la RdRp como blanco de acción de estos nuevos antivirales para BVDV. Se están realizando ensayos de curva de agregado de 1.9 para evaluar su efecto sobre la síntesis de ARN viral.

Conclusiones: En conclusión, la caracterización biológica preliminar de estos compuestos complementa los ensayos in silico y permitiría confirmar su actividad como inhibidores de la RdRp de BVDV. Los resultados obtenidos permitirán definir la relación estructura-actividad de estos nuevos derivados de la Quinazolina 1. A partir de las modificaciones químicas realizadas, se espera encontrar un nuevo compuesto líder que pueda ser optimizado en el futuro para obtener una mayor potencia antiviral.

VI 155

1027 - ACTIVIDAD ANTIVIRAL *IN-VITRO* DE TRIFLUOPERAZINA FRENTE A LOS VIRUS DENGUE Y ZIKA

PICCINI, Luana [1] | CASTILLA, Viviana[2] | DAMONTE, Elsa B.[1]

IQUIBICEN, CONICET/LABORATORIO DE VIROLOGÍA, DPTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA, FCEYN, UBA [1]; LABORATORIO DE VIROLOGÍA, DEPTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA, FCEYN, UBA [2]

Introducción y Objetivos: Los virus del dengue (DENV) y Zika (ZIKV) son arbovirus pertenecientes a la familia *Flaviviridae*, ambos son agentes etiológicos de patologías humanas ampliamente distribuidas y carentes de tratamientos antivirales específicos. Existen antecedentes de actividad antiviral de las fenotiazinas trifluoperazina (TFP) y clorpromazina frente a distintos arenavirus, incluído el virus Junín, agente de la fiebre hemorrágica argentina. A su vez, esta última inhibe la infección por DENV. Por su parte, TFP es una de las más potentes drogas neurolépticas de empleo frecuente como agente psicotrópico. Por lo tanto, nos propusimos investigar la potencial actividad antiviral de esta droga, cuyo uso farmacológico en humanos está aprobado, frente a DENV y ZIKV en cultivos de células.

Materiales y Métodos: La citotoxicidad se evaluó por el método de MTT en las líneas celulares Vero, A549 y Huh.7, determinando la concentración citotóxica 50% (CC_{50}). La actividad antiviral se evaluó por un ensayo de inhibición del rendimiento viral, que permitió el cálculo de la concentración efectiva 50% (CE_{50}). La expresión de la proteína viral E se analizó mediante ensayos de inmunofluorescencia. Para estudiar el mecanismo de acción se realizó el agregado a distintos tiempos de compuesto y particularmente se evaluó el efecto sobre la adsorción e internalización viral mediante rendimiento viral.

Resultados: Los valores de CC_{50} de TFP para las células Vero, A549 y Huh.7 fueron de 49, 61.7 y 54 µM, respectivamente. TFP presentó actividad antiviral en células Vero frente a los cuatro serotipos de DENV, DENV-1 a DENV-4, y ZIKV (CE_{50} 5.5, 6.3, 6.4, 5.1 y 5.0 µM respectivamente). También se evaluó su acción inhibitoria frente a DENV-2 y ZIKV en células A549 obteniéndose valores de CE_{50} de 8.3 y 18.7 µM, respectivamente, en tanto que no tuvo actividad frente a ambos virus en células Huh.7. El estudio del efecto de variaciones en el tiempo de adición del compuesto en células Vero infectadas con DENV-2 mostró una fuerte actividad antiviral de TFP en las primeras horas de infección y menor acción a tiempos posteriores. Cuando el compuesto estuvo presente durante la adsorción e internalización viral la inhibición del rendimiento de DENV-2 fue del 90%. La inhibición en la expresión de glicoproteína E de DENV-2 en células Vero fue de 85%.

Conclusiones: En conclusión, TFP presentó actividad antiviral selectiva frente a DENV y ZIKV en células Vero y A549, afectando principalmente las etapas tempranas de la replicación viral y en menor medida eventos tardíos del ciclo de multiplicación viral.

CAM - Virología clínica

VI 156

0722 - VIGILANCIA HOSPITALARIA DE INFLUENZA Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS, ARGENTINA, 2018. RESULTADOS PRELIMINARES.

BENEDETTI, Estefania [1] | AVARO, Martin[1] | CZECH, Andrea[1] | MACIAS, Erika[1] | PARDÓN, Fabián[1] | RUSSO, Mara Laura[1] | PONTORIERO, Andrea[1] | CABRAL, Graciela[2] | BAUMEISTER, Elsa[1] | ACOSTA, Viviana[2] | BENSO, Miriam[2]

SERVICIO DE VIROSIS RESPIRATORIAS. INEI."DR.C.G.MALBRÁN".ANLIS [1]; LABORATORIO DE VIROLOGÍA. HOSPITAL "PROFESOR ALEJANDRO POSADAS" [2]

Introducción y Objetivos: El Servicio de Virosis Respiratorias del INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" en colaboración con el Hospital "Prof. Alejandro Posadas" lleva adelante un estudio prospectivo en el marco de la Red Global de Vigilancia Hospitalaria de Influenza (GIHSN). Los objetivos fueron describir la detección de influenza (FLU) y otros virus respiratorios (OVR) en pacientes ; <= a 5 años de edad hospitalizados; correlacionar el diagnóstico clínico, los factores de riesgo (FR) y la severidad de las presentaciones clínicas con la etiología viral para sentar las bases para calcular la carga hospitalaria de enfermedad por influenza.

Materiales y Métodos: Entre los meses de marzo y diciembre de 2018 fueron incluidos 727 pacientes <= a 5 años que fueron internados con sospecha de infección respiratoria aguda (IRA), residentes en el área de estudio (definida por el área de influencia del hospital) que consultaron en los primeros 7 días de inicio de síntomas, a los que se les tomaron muestras de secreciones respiratorias (aspirados nasofaríngeos o hisopados nasofaríngeos), además se recolectó información clínico epidemiológica en una ficha estandarizada. Se llevó a

cabo la detección de genoma viral mediante RT-PCR en tiempo real para FLU y OVR como ser: virus sincicial respiratorio (RSV), adenovirus (ADV), parainfluenza (PI) I-III, metapneumovirus humano (HMPV) y rinovirus (RV), siguiendo protocolos internacionales. Finalmente, se correlacionaron los hallazgos virológicos con la información clínica epidemiológica disponible. Se utilizó test de Fisher con un $p< 0.05$ para considerar significativas las diferencias.

Resultados: El 58% de los pacientes fueron varones, la media de edad 1 año y 7 meses. La indicación de vacunación antigripal era para el 73% de la población pero solo el 10% documentó la aplicación. El % de positividad para VR fue 83% (603/727), para FLU 6.2%(45/727) y para OVR 76,5%(558/727); RV 30%, RSV 16%, ADV 3%, HMPV 5%, PI 5% y un 18% de co-detecciones, la mayoría de ellas asociadas a RV. Las detecciones de FLU se registraron entre SE30 y la SE45, siendo FLUA(H1N1) y FluB linaje Yamagata los predominantes. El 15% de la población presentó algún FR, en ese grupo el 87% fue positivo para algún VR y el 8.2% lo fue para FLU. Los individuos sin FR presentaron un % de positividad para VR algo menor, 82,7%y para FLU 5,8%, aunque la misma no fue estadísticamente significativa en comparación con los que tenían FR. RSV fue el virus más detectado en las Bronquiolitis seguido por RV. En las Neumonías y en el SBO FLU A fue el agente más frecuente. FLU B fue el virus más detectado en el CVAS.

Conclusiones: La actividad de FLU durante el período de estudio fue moderada y el inicio de la temporada tuvo un retraso de 10 semanas, observaciones que coinciden con los datos de la Vigilancia Nacional. FLU A estuvo asociada a un alto % de neumonías, índice de severidad y FLU B a CVAs , esto se debería a que en niños pequeños B-Yam no se asocia a casos graves. La detección de RV fue elevada, asignar un rol etiológico puede ser controversial debido a su prolongada detección luego de iniciados los síntomas. No se observó un % óptimo de vacunación.

VI 157

0747 - GENOTIPIFICACION DE ENTEROVIRUS CAUSANTES DE ENFERMEDAD MANO PIE BOCA CON PRESENTACION ATIPICIA EN EL HOSPITAL DE NIÑOS RICARDO GUTIERREZ.

ALVAREZ LOPEZ, María Cristina [1] | ROJO, Gabriel[2] | MONTOYA, Julieta[1] | ANSELMINO, Maria Cecilia[1] | JACQUEZ, Oscar[1] | MISTCHENKO, Alicia[1] | VALINOTTO, Laura[2]

HOSPITAL DE NIÑOS DR. RICARDO GUTIÉRREZ [1]; CONICET [2]

Introducción y Objetivos: La Enfermedad Mano Pie Boca (EMPB) es una infección exantemática causada por virus del género Enterovirus, principalmente Coxsackie A16 y enterovirus 71. Se observa clásicamente en niños menores de 5 años y se caracteriza por la aparición de lesiones en mucosa oral, palmas y plantas, autolimitadas y con duración de 7 a 10 días. En los últimos años se ha observado que el virus Coxsackie A6 (CV-A6) ha tomado un rol preponderante como agente causal de brotes de EMPB de presentación atípica, como ser la afección de adultos, la mayor extensión y distribución de las lesiones, así como cambios en la estacionalidad observada habitualmente. Durante los meses de Noviembre de 2018 a Mayo de 2019 el servicio de Dermatología de nuestro hospital detectó una alta incidencia de EMPB atípica. Debido a la especial presentación clínica, se propuso la genotipificación de los casos positivos para enterovirus.

Materiales y Métodos: Se analizaron muestras de hisopado de lesiones cutáneas de 28 pacientes de entre 3 meses y 10 años (mediana 1 año), provenientes del servicio de Dermatología con diagnóstico clínico de EMPB de presentación atípica y diagnóstico molecular positivo para enterovirus. Se realizó amplificación parcial de la región VP1 del genoma viral con posterior genotipificación.

Resultados: El análisis filogenético permitió determinar que todos los casos fueron causados por CV-A6 subgenotipo D, presentando alta homología a virus que circularon en Alemania, Polonia y Turquía en el año 2017.

Conclusiones: Debido a que la prevalencia de CV-A6 se ha incrementado a nivel mundial es importante la identificación viral de esta cepa en casos de EMPB atípica, a fin de ayudar en el diagnóstico diferencial, evitar el tratamiento con drogas innecesarias y colaborar en el control de brotes epidémicos mediante el diagnóstico precoz.

VI 158

0762 - INFECCIÓN EXTRAGENITAL POR VIRUS PAPILOMA HUMANO EN MUJERES QUE CONSULTAN POR LESIONES CERVICALES

MOSMANN, Jessica Paola [1] | KIGUEN, Ana Ximena[1] | VENEZUELA, Raul[1] | ZAYAS, Sofía[2] | MORENO, Andrea[2] | MAITA, Renzo[2] | ALTAMIRANO, Delicia[2] | GOLDSMORTHI, Mariela[2] | MINETTI, María Del Carmen[2] | ROSATO, Otilio[2] | CUFFINI, Cecilia[2]

INSTITUTO DE VIROLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. [1]; HOSPITAL UNIVERSITARIO DE MATERNIDAD Y NEONATOLOGÍA [2]

Introducción y Objetivos: El epitelio de la mucosa oral es similar al de cérvix, por lo tanto, no es sorprendente la presencia de tipos de Virus Papiloma Humano (VPH) "genitales" en ambos sitios. Una característica importante del proceso carcinogénico es la acumulación de daño genético para permitir que ocurra la transformación celular. Así, por ejemplo, aunque todo el epitelio oral está expuesto a varios carcinógenos, realmente suelen producirse transformaciones malignas focales y el desarrollo de cáncer se ha relacionado principalmente con el tabaco y alcohol. Mientras que, el cérvix uterino es propicio para la carcinogénesis debido a las características de la zona de transformación. El objetivo de este trabajo es estudiar la presencia de VPH genital y extragenital en dos grupos: mujeres con y sin lesiones del tracto genital inferior, confirmadas por estudios de colposcopía y papanicolau.

Materiales y Métodos: Se tomaron muestras de 80 pacientes cuyo examen de citología y colposcopía confirmaron lesión cervical. Y otro grupo, 50 mujeres con exámenes negativos para todo tipo de lesiones cervicales. La detección de VPH se realizó por PCR utilizando los primers MY09/11y genotipificación por RFLP.

Resultados: Se detectó VPH en 35 de las 130 pacientes estudiadas (27%). De todas se obtuvo una muestra cervical y una muestra oral; además en 30 de ellas (pertenecientes al grupo con lesiones cervicales) fue posible obtener también una muestra de hisopado anal y vaginal. Se detectó VPH en 24/130 muestras cervicales, 15/130 orales, 2/30 anales y 3/30 vaginales. Seis pacientes con lesiones cervicales fueron VPH (+) en dos sitios anatómicos diferentes, mientras que el mismo resultado se observó en 3 mujeres sin lesiones cervicales. Entre los genotipos detectados se encontraron de bajo riesgo: 6- 11 y 61, de riesgo intermedio el 53 y de alto riesgo: 16- 31- 52 y 58, predominando el 16 en ambos grupos y mucosas. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre presencia del virus (cualquiera sea la mucosa) y el hábito de fumar, práctica de sexo oral, presencia y ausencia de lesiones (p>0,05).

Conclusiones: El VPH es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes y a pesar de su papel bien establecido en el cáncer cervical, su rol en cáncer oral y otros cánceres es aún controversial, a pesar de que su prevalencia mundial en todos estos sitios anatómicos es común. La presencia del mismo podría ser consecuente con la predisposición genética, condiciones de respuesta inmune, además de los factores de riesgo conocidos. Sin embargo, la concordancia viral entre los dos sitios anatómicos (oral y cervical) parece no ser obligatoria. Y si bien, en este trabajo no hallamos asociación entre la presencia del virus y los factores de riesgo como tabaco y sexo oral, es necesario profundizar los estudios y sería importante sugerir la inspección de la cavidad oral en conjunto con la mucosa genital en general. Financiamiento: PIODO 99/2017; MinCyT Cba; SeCyT UNC; Fundación Roemmers.

VI 159

0784 - DETECCIÓN DE RINOVIRUS HUMANO EN NIÑOS INTERNADOS CON INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA. TUCUMÁN 2018

ZAMORA, Ana Maria [1] | RUIZ DE HUIDOBRO, Carlos Gustavo[1] | COSTAS, Dardo[2] | MEDINA, Marcela Susana[1] | SALMERÓN, Mariana B.[3] | PALAZON, Eliana Gisel[1] | LOPEZ DE CAILLOU, Maria Susana[1]

FACULTAD DE BIOQUIMICA QUIMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN [1]; DIV VIROLOGIA -DB-LSP SIPROSA [2]; DIV. VIROLOGIA - DB-LSP - SIPROSA [3]

Introducción y Objetivos: El Rinovirus Humano (RVH) fue descubierto en 1956 y considerado causante de una enfermedad relativamente benigna del tracto respiratorio superior. Sin embargo, actualmente ha sido relacionado con exacerbación de enfermedad pulmonar crónica, de asma y en trabajos recientes fue asociado con bronquiolitis grave en lactantes y niños, como también con neumonía grave en adultos mayores e inmunocomprometidos. El avance de los métodos moleculares para el diagnóstico virológico ha facilitado la detección y caracterización de grupos y cepas de RVH. En el marco de la vigilancia de virus respiratorios tales como Influenza A y B (IA, IB), Virus Respiratorio Sincitial (VRS), Adenovirus (ADV), Parainfluenza virus 1,2y3 (PIV), y Metapneumovirus (MPV) y teniendo en cuenta la importancia de RVH en las infecciones respiratorias agudas (IRA), consideramos incluir el diagnóstico de este virus en niños en el laboratorio de la Cátedra de Virología de la Facultad de Bioquímica-UNT. El objetivo fue describir la prevalencia de RVH en niños internados con IRA en instituciones privadas de Tucumán durante 2018, evaluar co-infecciones con otros virus respiratorios detectados por Inmunofluorescencia (IF) y su relación con el diagnóstico clínico indicado en la ficha clínico-epidemiológica.

Materiales y Métodos: En el laboratorio de la Cátedra de Virología se procesaron 414 muestras de aspirados nasofaríngeos (ANF) de niños de 0 a 5 años para detección de antígenos virales por Inmunofluorescencia de los virus antes mencionados, con excepción de RVH cuya presencia se investigó por RT-PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan. Para RVH se evaluaron todas las muestras tanto negativas como positivas para otros virus, a fin de estudiar la presencia de co-infecciones.

Resultados: El 78,5% de las muestras resultó positiva para algún virus respiratorio y los porcentajes fueron los siguientes: VRS 50.2%; RVH 25,2%; MPV 12%; IA 2,5%; IB 3,1% ; PIV 7,4% y ADV 0,9%. De las

muestras positivas para RVH el diagnóstico clínico principal fue Bronquiolitis con el 51.2%, seguido de SBOR 14,6% y Neumonía 7,3%. Además se detectaron co-infecciones en 46 muestras (14,2%) de las cuales el 63% correspondió a VRS-RVH.

Conclusiones: La implementación del diagnóstico de RVH en niños con IRA baja, permitió incrementar la capacidad diagnóstica en un 20%. Las co-infecciones de RVH son más frecuentes con VRS. La revalorización de RVH como causante de bronquiolitis en lactantes y niños y su inclusión en la vigilancia ayudará a la mejor comprensión de las infecciones respiratorias en los diferentes grupos etarios, a la toma de decisiones terapéuticas, como así también a evitar el uso indiscriminado de antibióticos que contribuyen a la resistencia antibiótica, tema que forma parte de las diez problemáticas que abordará la OMS para 2019.

VI 160

0810 - ESTUDIO DE TAMIZAJE Y TRIAGE DE CÁNCER DE CUELLO UTERINO CON PRUEBAS DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (HPV)

COLUCCI, Maria Celeste [1] | RODRÍGUEZ DE LA PEÑA, Mercedes[2] | GONZÁLEZ, Joaquín Víctor[1] | SAINO, María Agustina[3] | GUYOT, Julieta[3] | CORREA, Rita Mariel[1] | BASILETTI, Jorge Alejandro[1] | PADÍN, Valeria Mariel[1] | GARCÍA, Sandra Myriam[3] | ALMONTE, Maribel[4] | HERRERO, Rolando[4] | PICCONI, María Alejandra[1]

SERVICIO VIRUS ONCOGÉNICOS, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS-ANLIS MALBRÁN [1]; SERVICIO DE GINECOLOGÍA - HOSPITAL NACIONAL "PROF. POSADAS" [2]; SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA - HOSPITAL NACIONAL "PROF. POSADAS" [3]; AGENCIA INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN SOBRE CÁNCER (IARC) -ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) [4]

Introducción y Objetivos: Está demostrado que el cáncer de cuello uterino (CCU) es consecuencia de la infección persistente por virus papiloma humano de alto riesgo oncogénico (HPV-AR) y sigue siendo un grave problema de salud en Argentina y en la región. El objetivo es investigar la mejor estrategia de tamizaje para detectar las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (LIEAG) o más graves (LIEAG+), con la menor cantidad de trabajo diagnóstico.

Materiales y Métodos: En 2016 se inició un estudio transversal que incluye un tamizaje primario empleando la detección de HPV-AR (Cobas® 4800 HPV Test, Roche) y citología (Pap), en mujeres, 30-64 años de edad, residentes en el conurbano oeste (Provincia de Bs. As.). Las mujeres con HPV-AR y/o Pap positivo fueron derivadas a colposcopía, eventual toma de biopsia, diagnóstico histológico y tratamiento según fuera necesario, con seguimiento a los 18 meses.

Resultados: Se resumen los resultados preliminares del tamizaje y seguimiento a 18 meses. El reclutamiento finalizó con 3.340 mujeres, de las cuales 510 (15,3%) resultaron positivas para el test de HPV-AR; entre ellas: 14,51% (74/510) positivas para HPV16, 4,12% (21/510) positivas para HPV18 y 67,65% (345/510) positivas para Otros HPV-AR (distintos de HPV16 o HPV18); además, hubo 70 infecciones múltiples. Fueron referidas a colposcopia (2º visita) 558 pacientes, de las cuales asistieron 545 (97,7%); a 227 se les tomaron biopsias. Los diagnósticos cito-histológicos correspondieron a: 392 (71,9%) citología normal, 93 (17,1%) lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (LIEBG) y 60 (11,0%) LIEAG+. Hasta mayo 2019, acudieron al seguimiento a los 18 meses (3º visita) el 77,2% de las pacientes (278/360); en las mismas, el 41,4% negativizó su resultado HPV-AR.

Conclusiones: En el tamizaje primario, la prevalencia de HPV-AR obtenida (15,3%) es cercana a la descripta en mujeres >= 30 años en el Programa Nacional de Prevención del Cáncer Cervicouterino en Jujuy (12,7%). Además, la identificación de HPV16 en la mayoría de las LIEAG+ (40/60) indica la posible utilidad clínica de la detección individual de este tipo viral. El test de HPV-AR demostró ser más sensible que la citología, ya que 23/60 (38,3%) LIEAG+ por histología, poseían Pap normal o de bajo grado. Por otro lado, se observó que la mayoría de las mujeres HPV-AR positivas en el reclutamiento tuvieron colposcopias normales o LIEBG (86,1%); esto sumado a que en el seguimiento a 18 meses, el 41,4% de las pacientes negativizaron el test de HPV (indicando posibles infecciones transitorias), refuerza la necesidad de incorporar una prueba adicional (triage) para aumentar la especificidad en el tamizaje primario. (Subsidios: IARC: CRA PRI/2015/06, CRA/PRI/2018/01; INC62- 2015; PICT-2016-0364). Los autores que figuran representan al grupo ESTAMPA (ESTudio multicéntrico de TAMizaje y triage empleando pruebas de virus PApiloma humano).

VI 161

0828 - VIGILANCIA MOLECULAR DE LAS VARIANTES DEL VIRUS DE HEPATITIS A EN ARGENTINA A 14 AÑOS DE LA IMPLEMENTACION DE LA VACUNACION UNIVERSAL CON UNA DOSIS

ALTABERT, Nancy Rosana [1] | MINASSIAN, Maria Laura[1] | VLADIMIRSKY, Sara Noemí[1] | OTEGUI MARES, Lucio Oscar[1] | BRAJTERMAN, Leonardo Sergio[1] | SOTO, Sonia Soledad[1] | BISCAYART, Cristian[2] | IGLESIAS, Martina[2] | GONZALEZ, Jorge Enrique[1]

LAB. NAC. DE REFERENCIA PARA HEPATITIS VIRALES, DTO. DE VIROLOGÍA, INEI - ANLIS " DR. C. G. MALBRÁN" [1]; DIR. DE CONTROL DE ENFERMEDADES INMUNOPREVENIBLES. MINIST. DE SALUD Y DESARROLLO SOCIAL DE LA NACIÓN [2]

Introducción y Objetivos: En junio de 2005 Argentina implementó la vacunación universal contra el virus de hepatitis A (HAV) en niños de 12 meses de edad y con una sola dosis. Desde entonces la notificación de casos disminuyó sostenidamente un 90% comparado con los años anteriores. Previo a la vacunación el único subgenotipo (Sg) hallado en variantes adquiridas localmente fue el IA. Desde 2009 colaboramos con la vigilancia epidemiológica intensificada a través de la caracterización molecular de variantes del HAV circulantes con el fin de detectar cambios en el patrón de circulación, cepas de escape a la inmunidad vacunal, grupos de riesgo y demostrar la conexión epidemiológica en brotes permitiendo intervenciones apropiadas. El objetivo de este trabajo es contribuir a la vigilancia intensificada a través de la caracterización molecular del HAV.

Materiales y Métodos: Se estudiaron muestras de suero y/o materia fecal de 211 pacientes de distintas provincias del país derivadas a nuestro laboratorio a través del SIVILA, Unidades Centinela ó SNVS2.0, período 2009-2018, con diagnóstico de hepatitis aguda, anti-HAV IgM+, sin antecedentes de vacunación comprobables. Se caracterizó molecularmente la región VP1/2A (349 pb). Los productos de PCR fueron secuenciados y analizados con programas filogenéticos.

Resultados: Del total de pacientes estudiados, la edad mediana fue 15 años (a), rango IQ 9-28, 63% masculino. En el período 2017-2018 –respecto a 2009-2016- aumentó la proporción de mayores de 18a (81 % vs 24%; p<0.000). Entre los mayores de 18a aumentó el % de hombres (81% vs 48%; p=0.001). Se caracterizaron 137 variantes de HAV, 133 fueron Sg IA. Se detectó una variante importada de África en el año 2014 Sg IIA. Se detectaron tres variantes Sg IC, de las cuales dos son posibles casos importados -un tripulante de un crucero diagnosticado en Ushuaia en 2011 y un viajero a Ecuador en 2016, diagnosticado en Córdoba- y un caso autóctono en el año 2014 de Santa Fe. Durante el periodo 2017-2018 se analizaron 33 casos de hombres mayores de 18a de los cuales 12 consignan el antecedente de tratarse de hombres que tienen sexo con hombres (HSH). Estas secuencias presentan alta similitud con 2 de las 3 variantes asociadas a los brotes de HSH descriptos en Europa (RIVM-HAV16-090 y $VRD_5 21_2 016$).

Conclusiones: El Sg IA continúa siendo el que circula mayoritariamente en variantes adquiridas localmente. La vigilancia intensificada de esta enfermedad inmunoprevenible permitió detectar tres variantes correspondientes al Sg IC en muestras clínicas y una variante del Sg IIA importada de África. El aumento de muestras recibidas de pacientes mayores de 18a en 2017-2018 refleja el cambio en la distribución etaria esperable al disminuir la circulación viral por la vacunación. Asimismo, el aumento de muestras de hombres jóvenes recibidas en dicho período permite hipotetizar que la población de HSH constituiría un grupo de riesgo para la infección por HAV en nuestro país sobre el que es necesario promover la vacunación y otras estrategias de prevención.

VI 162

0830 - ESTUDIO COMPARATIVO DE LA RESPUESTA INMUNE IDUCIDA POR UNA CEPA CLASICA DE IBDV EN DIFERENTES ESTIRPES DE POLLOS

JATON, Juan [1] | GOMEZ, Evangelina[1] | PINTO, Silvina[2] | CANET, Zulma[3] | LUCERO, María Soledad[1] | RICHETTA, Matías[1] | BERINSTEIN, Analía[1] | GRAVISACO, María Jose[1] | CHIMENO ZOTH, Silvina[1]

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [1]; FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [3]

Introducción y Objetivos: El virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (IBDV) es el agente etiológico de una enfermedad altamente contagiosa que afecta a pollos jóvenes, pudiendo causar inmunosupresión. Infecta linfocitos B portadores de IgM en su membrana, durante el proceso de maduración que ocurre en la bursa de Fabricio, órgano linfoide exclusivo de las aves. El pollo híbrido Negra INTA (NI) fue desarrollado en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y es distribuido por el Programa ProHUERTA. Es una gallina ponedora autosexante que surge como el producto de la cruza entre hembras Plymouth Rock Barrada y machos Rhode Island Colorados. Los parámetros productivos de este híbrido han sido caracterizados, pero hasta el momento no se lo ha estudiado desde el punto de vista inmunológico. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la susceptibilidad a la infección por IBDV del híbrido Negra INTA en comparación con una línea comercial ampliamente utilizada en avicultura.

Materiales y Métodos: Para ello, se infectaron pollos NI y White Leghorn (WL) de 28 días con una dosis única de una cepa clásica de IBDV. A los 3, 5, 7 y 35 días post infección (dpi) se sacrificaron 6 animales por grupo para medir diferentes parámetros. Se realizaron sangrías semanales desde el día 7 pi para medir anticuerpos específicos y su avidez contra IBDV. A partir de las muestras de bursa de Fabricio extraídas luego del sacrificio de los animales, se determinó la relación BC (Peso de la Bursa/Peso del cuerpo), se evaluó el daño histológico, se cuantificó la carga viral mediante RT-PCR en tiempo real y se analizaron las poblaciones linfocitarias mediante citometría de flujo.

Resultados: Los resultados obtenidos mostraron que ambas razas desarrollaron un grado similar de atrofia de la bursa como consecuencia de la infección con IBDV y que el híbrido mostró menor grado de fibrosis a los 7

dpi, sugiriendo un progreso menor del daño histológico y una tendencia a recuperarse más rápidamente. La carga viral fue mayor en el híbrido NI a los 5 dpi pero no se vieron diferencias significativas en los otros tiempos evaluados. Los títulos de anticuerpos anti IBDV y su avidez fueron similares en las dos estirpes analizadas. Por último, el análisis de las poblaciones linfocitarias reveló que la población de linfocitos B IgM+ es significativamente menor en los animales control pertenecientes al grupo NI. Por otro lado, en los animales infectados del grupo White Leghorn, se observó mayor infiltración de linfocitos T CD4+ a los 3 dpi. Por último, en el grupo NI se detecto mayor repoblación de linfocitos B IgM+ a 35 dpi.

Conclusiones: Los resultados obtenidos indican que, a pesar de algunas diferencias observadas, no existen evidencias de susceptibilidad diferencial frente a IBDV entre las estirpes evaluadas.

VI 163

0890 - EL LABORATORIO EN LA VIGILANCIA DE LAS ENFERMEDADES FEBRILES EXANTEMÁTICAS: REAPARICION DE SARAMPION DESPUES DE 2 DECADAS

ACEVEDO, María Elina | NABAES JODAR, Mercedes | DÍAZ, Christian Ángel | BARQUEZ, Raquel | GONZÁLEZ, Mónica Angélica | LUNA, Oscar Alberto | VIEGAS, Mariana | MISTCHENKO, Alicia Susana

HOSPITAL DE NIÑOS DR. RICARDO GUTIÉRREZ

Introducción y Objetivos: El 28 de marzo de 2018 se detectó un caso de sarampión en un lactante de 8 meses, residente en la Ciudad de Buenos Aires, sin antecedente de viaje. Ante esta situación, y teniendo como escenario la circulación del virus de sarampión en países de América y en Europa, el Ministerio de Salud de la Ciudad de Buenos Aires emitió un alerta con el objetivo de intensificar la vigilancia epidemiológica de las Enfermedades Febriles Exantemáticas (EFE) e implementar en forma inmediata las acciones de control pertinentes. Cabe recordar que no se había detectado transmisión local desde el año 2000, sino sólo casos esporádicos relacionados con la importación. El Laboratorio de Virología del Hospital de Niños R. Gutiérrez, como parte de sus funciones como laboratorio de referencia de EFE para la Ciudad de Buenos Aires, recibe muestras de los casos sospechosos de sarampión atendidos en efectores públicos y privados de la Ciudad de Buenos Aires. En respuesta al alerta epidemiológico generado por la aparición de éste primer caso, se inició el estudio intensificado de búsqueda de sarampión que se extendió entre marzo de 2018 y marzo de 2019.

Materiales y Métodos: Entre marzo de 2018 y marzo de 2019 se recibieron y procesaron muestras de sangre, hisopados nasofaríngeos u orina, para la detección del virus del sarampión de pacientes que reunieran los criterios de caso sospechoso. Todos los pacientes estaban en período exantemático. Para el diagnóstico virológico se aplicó el algoritmo de referencia del CDC el cual consiste en la detección de anticuerpos IgM específicos por métodos serológicos y de genoma viral por qRT-PCR. Para la detección de genotipo se realizó la amplificación y secuenciación de la región C-terminal del gen de la nucleoproteína N. Las secuencias obtenidas fueron sometidas a análisis filogenético (iqTree) con las cepas de referencia de los genotipos recomendadas por la OMS.

Resultados: Se recibieron 1376 muestras las cuales correspondieron a 953 casos sospechosos: 920 muestras de sangre, 230 de secreciones nasofaríngeas y 226 de orina. La edad de los pacientes fue de 0 a 49 años, mediana 1 año de edad. En 42/825 casos sospechosos se detectó IgM. En 20/551 casos sospechosos se detectó ARN viral, 15 de los cuales tenían IgM reactiva simultáneamente y el 80% de los mismos estaban entre los días 1 y 3 desde el inicio de exantema. En 11/551 muestras para PCR se detectó virus en orina obteniendo en secreciones nasofaríngeas el mismo rendimiento. La identificación del genotipo se obtuvo en 15 casos, 9 correspondían a genotipo D8 y 6 al genotipo A, similar a la cepa vacunal Edmoston (éstos últimos fueron casos de sarampión asociados a la vacuna)

Conclusiones: La vigilancia epidemiológica permitió la detección precoz del virus y la implementación de medidas sanitarias inmediatas. La identificación del genotipo permitió sugerir o confirmar la fuente y origen del virus, así como establecer cadenas de transmisión entre varios casos.

VI 164

0933 - EL VIRUS DE LA HEPATITIS E CIRCULA EN TUCUMÁN: PRIMER ANÁLISIS RETROSPECTIVO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA SEROPOSITIVIDAD A HEPATITIS E EN DONANTES DE SANGRE

ARCE, Lorena Paola [1] | VALVERDE, Carolina[2] | ROBLES, Gabriel[3] | MARRANZINO, Gabriela[4] | AGOTE, Felicitas[2] | BRUNO, María Elisa[5] | VIZOSO PINTO, María Guadalupe[1]

INSIBIO - FAC. DE MEDICINA DE LA UNT (CONICET-UNT) [1]; BANCO CENTRAL DE SANGRE DE TUCUMÁN "DR. CÉSAR GUERRA". PRIS–SI.PRO.SA. [2]; BANCO CENTRAL DE SANGRE DE TUCUMÁN "DR. CÉSAR GUERRA". PRIS–SI.PRO.SA. [3]; INSIBIO- CONICET [4]; DIRECCIÓN DE EPIDEMIOLOGÍA, SIPROSA, MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DE TUCUMÁN [5]

Introducción y Objetivos: El virus de la hepatitis E (VHE) es la causa más común de hepatitis viral aguda a nivel mundial. En Argentina el VHE GT3 es un virus emergente y existen pocos datos sobre su circulación y epidemiología. El VHE se transmite principalmente por vía fecal-oral, transfusiones de sangre y zoonosis. Pacientes inmunosuprimidos pueden desarrollar hepatitis fulminante y crónica. La patogenia y epidemiología de este virus aún no se conoce por completo. Objetivos. Poner en evidencia la circulación del VHE en Tucumán y establecer los factores de riesgo asociados a la seropositividad para VHE.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio observacional, retrospectivo y transversal para identificar los factores de riesgo relacionados con la seropositividad para VHE. El Comité de Ética del SIPROSA aprobó el protocolo. Población: se estudiaron 285 donantes del Banco de sangre de Tucumán de 12/2017 a 03/2018 que consintieron en participar. Se realizó una encuesta con datos como sexo, edad, ocupación, nivel de educación, etc. Serología para VHE: Los anticuerpos anti-VHE fueron detectados mediante un ELISA in house desarrollado en nuestro laboratorio basado en el antígeno de cápside. Estadística: La seropositividad para VHE se tomó como variable dicotómica y se estudió su asociación con determinantes de riesgo mediante el test de Chi ^{2} y análisis multivariado de regresión con el software STATA 11. Asociaciones con un valor de P<0,05 se consideraron significativas.

Resultados: El 86,7% de las muestras reactivas para Hepatitis E fueron de sexo masculino sin diferencia significativa (P=0,503), la media de edad fue de 33 años. No observamos diferencia entre grupos de edad (P=0,605). 5,2% de las muestras de los donantes estudiados fueron reactivas para Hepatitis E y 2,46% fueron reactivas para otros patógenos (VHB, VHC, brúcela, sífilis). Cuando comparamos las variables dicotómicas para encontrar posibles factores de riesgo para seropositividad para VHE, encontramos los siguientes: viaje a país limítrofe (P<0.030), el 33,3% de la población reactiva para Hepatitis E no terminó la escuela primaria (P<0,008) y el 40% de la población reactiva para Hepatitis E realiza trabajos de riesgo (albañil, cosechero, recolector de residuos) (P<0,023).

Conclusiones: En el año 2017 reportamos por 1ª vez la circulación de VHE (seroprevalencia 8.3%) en Tucumán. Ahora, presentamos los resultados del primer estudio observacional retrospectivo transversal en el país que investiga los factores de riesgo para la seropositividad para VHE. Para tomar una decisión acerca de la necesidad de detectar VHE en donantes de sangre, es muy importante identificar si existen grupos específicos con mayor riego de transmitir y contraer VHE. En Tucumán la seroprevalencia fue de 5,2% en 2018. Identificamos 3 factores de riesgo relacionados a una infección por VHE pasada: viaje a un país limítrofe, ocupación de riesgo y educación primaria incompleta.

VI 260

0393 - ACTIVIDAD INHIBITORIA DE NANOPARTICULAS DE PLATA FRENTE A BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS

MARUCCI, Patricia Liliana[1] | GONZÁLEZ, María Belén[2] | SICA, María Gabriela[1] | SAIDMAN, Silvana B.[2] | **BRUGNONI, Lorena** [3]

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA [1]; INSTITUTO DE INGENIERÍA ELECTROQUÍMICA Y CORROSIÓN (INIEC), DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA, UNS [2]; UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR, DPTO. DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA/INBIOSUR-CONICET [3]

Introducción y Objetivos: La síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) ha atraído la atención de los científicos en los últimos años por sus propiedades antibacterianas, lo que permite su aplicación en áreas como cosmética, cuidado de la salud humana, industria alimentaria y tratamiento de aguas. Recientemente se ha estudiado la incorporación de AgNPs en matrices de polímeros conductores con la finalidad de potenciar las propiedades de ambos materiales y conseguir efectos sinérgicos. Se ha demostrado que tanto especies de Ag como de Cu pueden ser inmovilizadas efectivamente sobre una matriz microtubular de polipirrol (PPy) dopada con Salicilato (Sa) con una gran área superficial. En este trabajo, se ensayó la actividad antibacteriana de AgNPs frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Listeria innocua* mediante una técnica de difusión en agar.

Materiales y Métodos: Las AgNPs fueron electrosintetizadas sobre una matriz de PPy con morfología microtubular mediante un doble pulso de potencial: E1= 0,8 V durante 0,5 s y E2= 0,1 V durante 30 s, a partir de una solución conteniendo 0,01 M AgNO3 y 0,1M KNO3. El PPy se electrodepositó a 0,9 V sobre una chapa de acero inoxidable 316 L con un área expuesta de 0,25 cm2 a partir de una solución constituida por 0,5 M salicilato de sodio. Los resultados de la caracterización de las AgNPs-PPy-Sa muestran aglomerados con un tamaño promedio de distribución de las AgNPs de 100 nm. La actividad antimicrobiana de las AgNPs-PPy-Sa fue evaluada utilizando la técnica de difusión en agar adaptada de Kirby-Bauer. Para cada cultivo se realizó una suspensión bacteriana con solución salina estéril hasta obtener una turbidez equivalente al 0,5 de McFarland. Posteriormente se hisoparon placas de agar Müeller Hinton y se depositaron por duplicado en la superficie las AgNPs-PPy-Sa y el correspondiente control (PPy-Sa). Los halos de inhibición (en mm) se midieron luego de 24 h de incubación a 35 °C.

Resultados: El 83% de las cepas ensayadas presentaron sensibilidad a las AgNPs. El rango de inhibición para las cepas sensibles de *S. aureus* fue de 3 a 11 mm y para las cepas de *E. coli* fue de 2 a 7 mm. *Pseudomonas aeruginosa* presentó un halo de inhibición de 3 mm, *Salmonella* spp. de 2 mm y *L. innocua* de 6 mm. No se observó actividad inhibitoria frente a *L. monocytogenes*.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que efectivamente los recubrimientos de AgNPs-PPy-Sa tienen actividad antibacteriana frente a los microorganismos ensayados. Si bien estos resultados son preliminares, es importante destacar que el uso de la plata en forma de nanopartículas permitiría disponer de una herramienta más por sus características antibacterianas, con las ventajas de presentar poca toxicidad para el organismo humano cuando están en forma de NPs y escasa resistencia de cepas Gram positivas y Gram negativas.

PÓSTERS DEL V CONGRESO ARGENTINO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS (CAMA 2019)

Pósters

Presentación de pósters CAMA 1

Miércoles 25 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

CAMA - Análisis de riesgos y métodos rápidos de detección

MI 165

0197 - PREVALENCIA DE *SALMONELLA* SPP. Y *ESCHERICHIA COLI* EN AGUA DE CONSUMO HUMANO EN ECUADOR

BAYAS-MOREJÓN, Favian | **NUÑEZ TORRES, Darwin** | RAMÓN CURAY, Riveliño

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Introducción y Objetivos: El agua potable tiene características físicas, químicas, y microbiológicas que han sido tratadas a fin de garantizar su aptitud para consumo humano, así también, la norma INEN (Norma Técnica Ecuatoriana) considera que los microorganismos patógenos, son los causantes potenciales de enfermedades. Entre el grupo de las proteobacterias patógenas están: Escherichia coli con su serotipo O157: H7, Salmonella, causantes de problemas gastro intestinales. El objetivo del estudio fue analizar la prevalencia de patógenos como *Escherichi coli* y *Salmonella* en agua de consumo humano de San José de Chimbo.

Materiales y Métodos: Se analizaron 100 muestras de aguas de consumo humanos del cantó San José de Chimbo (Ecuador), las muestras inicialmente fueron filtradas sobre cajas petri con agar nutriente para coliformes, agar XLD (Xilosa Lisina Desoxicolato) para *Salmonella* spp. para luego ser incubado a 37° C durante 48h bajo aerobiosis. 24 horas después, las colonias características a ser Escherichia fueron inoculadas en el medio bilis verde brillante; en el caso de Salmonella, las colonias características fueron re cultivadas en agar Rappaport; en ambos casos, las colonias fueron analizadas por tinción de Gram. Las presuntas *Escherichia coli* fueron confirmadas por PCR de acuerdo Al método establecido por Lindsey et al. (2017). La confirmación de *Salmonella* a nivel de género fue desarrollada usando el método establecido por Cheng et al. (2008).

Resultados: Tras los análisis de cultivo y confirmación por pruebas microscópicas, bioquímicas y PCR, se obtuvo que la prevalencia de *Salmonella* spp. de 13%, mientras que de Escherichia coli fue del 54%; con bandas en gel de agarosa de 262 y 212 pb respectivamente. El mayor número de muestras contaminantes fueron encontradas en las fuentes de consumo directo a diferencia de las muestras obtenidas directas de la vertiente que no presentaron estar contaminadas.

Conclusiones: El agua potable del cantón en estudio presenta coliformes fecales que la normativa INEN no permite, además, el estudio demuestra que la contaminación se da en la conducción del agua y mas no en la vertiente, por lo cual, dicha agua no es apta para el consumo. Lo que se recomienda es la sustitución total de los sistemas de conducción del agua.

CAMA - Microbiología industrial, ambiental y biotecnología

MI 166

0865 - EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE UNA LACASA TERMOESTABLE DE *THERMUS SP. 2.9* PARA DECOLORAR COLORANTES SINTÉTICOS: ANÁLISIS DEL MECANISMO DE ACCIÓN SOBRE COMPUESTOS AZOICOS

NAVAS, Laura [1] | CARBALLO, Romina[2] | LEVIN, Laura[3] | BERRETTA, Marcelo[1]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [1]; FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]; DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD Y BIOLOGÍA EXPERIMENTAL - FCEN - UBA [3]

Introducción y Objetivos: Las lacasas son multicobre-oxidasas capaces de catalizar la oxidación de una variedad de sustratos acoplada a la reducción de oxígeno molecular a agua. En base a su especificidad por compuestos fenólicos, las lacasas pueden actuar sobre colorantes sintéticos y por lo tanto presentan potencial utilidad para el tratamiento de efluentes de la industria textil. En estudios previos se caracterizó la lacasa termoestable LAC_2.9 proveniente del aislamiento nativo THERMUS sp. 2.9, expresada en forma recombinante en *Escherichia coli*. Los objetivos del presente trabajo consistieron en determinar la capacidad de LAC_2.9 de decolorar diferentes tipos de tintes sintéticos, evaluar su resistencia a metales pesados y caracterizar preliminarmente los mecanismos intervinientes en la decoloración de dos tinturas azoicas.

Materiales y Métodos: Se analizó la capacidad decolorante de LAC_2.9 sobre los colorantes xilidina y naranja de metilo (azoicos), verde de malaquita y violeta de genciana (trifenilmetánicos) azul brillante de remazol R (RBBR; antraquinónico) e índigo carmín (indigoico). Las reacciones se llevaron a cabo a 60 ºC, a tres pHs (5,0, 7,0 y 9,0), en presencia o ausencia de los mediadores redox 1-hidroxibenzotriazol (HBT), y ácido p-hidroxibenzoico (pHBA). La actividad de decoloración se calculó en base a la disminución en la absorbancia de cada colorante. El efecto de metales pesados sobre la actividad de la enzima se calculó como % de la actividad relativa a una reacción control usando el sustrato estándar ABTS (2,2'-azino-di-[3-etilbenzotiazolina sulfonato]. Los productos de las reacciones de decoloración de los tintes azoicos xilidina y naranja de metilo se analizaron por electroforesis capilar y espectrometría de masa.

Resultados: Todas las tinturas ensayadas fueron decoloradas con diferente grado de eficiencia, dependiendo del colorante y del pH de la reacción. En general, a pH 5 la presencia del mediador HBT aumentó la eficiencia. A pH 9 y con lacasa sola se obtuvieron valores de decoloración de 87% para xilidina, 54% para RBBR, 40% para violeta de genciana, y 33% para naranja de metilo, después de 24 hs. No se observó inhibición de la enzima en presencia de varios metales pesados a una concentración de 10 mM. Los picos distintivos del perfil electroforético de la xilidina presentaron una importante disminución después del tratamiento con lacasa con o sin HBT. En el caso del naranja de metilo, el tratamiento con lacasa produjo una variación del tiempo de retención del pico del colorante (7 min), pero no se observaron nuevos picos correspondientes a productos de degradación. En cambio, en presencia de HBT se observó la aparición de un nuevo pico (6,5 min) junto con una disminución del pico de 7 min. Este mecanismo sugiere un mecanismo de decoloración diferente en presencia de HBT. El análisis de los espectros de masa confirmó estos resultados.

Conclusiones: La capacidad decolorante de LAC_2.9 sobre distintos colorantes textiles y su alta estabilidad revelan el potencial de la enzima para su uso en el tratamiento de efluentes textiles. La decoloración de dos colorantes mono-azoicos evidenció mecanismos diferentes: degradación del colorante sin requerimiento de mediador, en el caso de xilidina (que contiene un grupo –OH fenólico vecino al grupo azo (-N=N-)), y degradación con presencia requerida de mediador, en el caso de naranja de metilo (no fenólico).

MI 167

0215 - CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS CRISPR-CAS EN LACTOBACILOS DEL GRUPO *CASEI*

PUJATO, Silvina | GALLIANI, Valentina | **BRIGGILER MARCÓ, Mariángeles** | QUIBERONI, Andrea | MERCANTI, Diego

INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL (INLAIN, UNL-CONICET)

Introducción y Objetivos: Los sistemas CRISPR (del inglés *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), presentes en genomas de bacterias y arqueas, son arreglos de secuencias de ADN repetitivas, cortas y conservadas (repeticiones), intercaladas con secuencias variables (espaciadores). Estos arreglos se asocian con genes específicos (*cas*), y en conjunto (sistemas CRISPR-Cas) proporcionan inmunidad específica y heredable contra fagos y plásmidos. Estos sistemas se clasifican de acuerdo con el contenido de genes *cas* en 6 tipos (I a VI) y varios subtipos. La especificidad de la inmunidad radica en los espaciadores, cuya secuencia corresponde a segmentos de ADN de agentes invasores adquiridos durante contactos previos. Un sistema activo debe poseer genes *cas*, ya que estos median la adquisición de espaciadores y el proceso efector de la inmunidad. A pesar de la creciente popularidad de CRISPR-Cas como herramienta de edición genómica, se han caracterizado pocos sistemas endógenos. Por ello, el objetivo planteado para este trabajo fue detectar, secuenciar y analizar los sistemas CRISPR-Cas completos presentes en 49 cepas de lactobacilos del grupo *casei* de la colección del INLAIN.

Materiales y Métodos: Con este propósito se diseñaron primers específicos sobre secuencias nucleotídicas conservadas de regiones CRISPR reportadas en genomas de lactobacilos del grupo *casei*. Utilizando dichos primers, se verificó por PCR la presencia de sistemas de los tipos IIA en 21 cepas (17 *Lactobacillus paracasei* y 4 *Lactobacillus rhamnosus*) y IE en una cepa de *Lb. paracasei*. Los amplicones fueron secuenciados (Macrogen, Corea) y a partir de las secuencias obtenidas se repitieron sucesivamente ciclos de diseño de primers, amplificación y secuenciación, hasta completar los *loci* CRISPR-Cas.

Resultados: El contenido de genes *cas* para las cepas con sistema tipo IIA fue característico: *cas1* y *cas2* (universales, presentes en todos los sistemas CRISPR-Cas), *csn2* (específicos del tipo IIA) y *cas9* (sistemas tipo II). La diversidad de los sistemas CRISPR-Cas se determinó a través de la

distribución filogenética de *cas1*, mientras que la variabilidad entre los sistemas de tipo II encontrados fue evaluada a través de la alineación de *cas9*. Además, se identificó un tracrRNA homólogo a los encontrados en los sistemas de tipo II, entre los genes *cas1* y *cas9*. Aunque los genes universales fueron conservados, se observó un 22% de polimorfismo de nucleótidos para *cas9*. Como era de esperar, el contenido de espaciadores fue variable (entre 10 y 26) entre las cepas. La cepa con el sistema tipo IE también presentó un contenido de genes *cas* característico: *cas1* y *cas2* (universales), además *cas3* y *cas6e*, los cuales determinan que se trata específicamente de este sistema.

Conclusiones: Los sistemas CRISPR-Cas hallados en 21 cepas de *Lb. paracasei* y *Lb. rhamnosus* podrían estar activos ya que poseen regiones CRISPR completas. Estudios posteriores de interferencia se utilizarán para confirmar esta hipótesis.

MI 168

0219 - ESTUDIO DE LA INACTIVACIÓN FOTOCATALÍTICA DE FAGOS DE BACTERIAS LÁCTICAS EN UN REACTOR A ESCALA SEMI-PILOTO

BRIGGILER MARCÓ, Mariángeles [1] | NEGRO, Antonio[2] | GORNATI, Jésica[1] | ALFANO, Orlando[2] | QUIBERONI, Andrea[1]

INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL (INLAIN, UNL-CONICET) [1]; INSTITUTO DE DESARROLLO TECNOLÓGICO PARA LA INDUSTRIA QUÍMICA (INTEC, UNL-CONICET) [2]

Introducción y Objetivos: Las infecciones fágicas continúan siendo una amenaza para los procesos fermentativos, a pesar de las diversas estrategias implementadas a nivel industrial para disminuir su incidencia. El objetivo del presente trabajo fue investigar la inactivación de fagos de bacterias lácticas, contenidos en el aire, en un reactor fotocatalítico (TiO_2 como catalizador, UV-A) a escala semi-piloto, ajustando previamente diversas condiciones de operación.

Materiales y Métodos: En este sentido, utilizando el fago B1 (infectivo de *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014) se ajustó el método de preparación de la suspensión fágica (concentración por centrifugación en tubos concentradores *Vivaspin*, agregando o no una etapa previa de concentración con PEG 8000, 10% m/v), de nebulización (utilizando 2 nebulizadores a pistón trabajando en serie o el nebulizador *Collison* 6-jet) así como también la influencia de la humedad relativa en el interior del reactor (73 y 46%). Posteriormente, los ensayos de inactivación fotocatalítica involucraron a los fagos B1, LDG y Ln9 infectivos de las cepas *Lb. plantarum* ATCC 8014, *Leuconostoc pseudomesenteroides* R707 y *Leuconostoc mesenteroides* 79-1, respectivamente. Para estos ensayos, las suspensiones fágicas fueron diluidas (1:10) en agua destilada estéril y nebulizadas en el interior del reactor (durante 30 min), llevando a cabo los ensayos de inactivación como función del tiempo durante 100 min (tiempo total).

Resultados: Según los resultados obtenidos, basados en una mejor *performance* del fago B1 contenido en el aire en el interior del reactor, se seleccionaron como condiciones de operación, la concentración de la suspensión fágica mediante tubos concentradores *Vivaspin* (sin etapa previa de concentración con PEG), la utilización del nebulizador *Collison* y una humedad relativa de 73% en el interior del equipo. Con respecto a los ensayos de inactivación, los títulos obtenidos mientras el nebulizador estuvo funcionando (30 min) fueron de $2{,}0.10^4$, $5{,}0.10^3$ y de $3{,}0.10^3$ UFP/ml para los fagos B1, LDG y Ln9, respectivamente. Cuando el proceso de nebulización finalizó, se observó una disminución en los títulos fágicos tanto en presencia como en ausencia de radiación UV-A (y presencia de catalizador). En este sentido, en ausencia de radiación UV, se observó una disminución de 2 órdenes log a los 100 min de experiencia para los 3 fagos mientras que en presencia de luz UV se logró su inactivación completa (títulos < 10 UFP/ml) dentro de los 80 min (B1) y 100 min de tratamiento fotocatalítico (LDG y Ln9).

Conclusiones: El reactor fotocatalítico a escala semi-piloto resulta efectivo para la inactivación de fagos de bacterias lácticas contenidos en bioaerosoles. Esta tecnología podría implementarse en conjunto con otras estrategias para disminuir el riesgo de infecciones fágicas en los ambientes industriales.

MI 169

0198 - PREVENCIÓN DE DEFECTOS EN LA INDUSTRIA VITIVINÍCOLA MEDIANTE EL USO DE APLICACIONES MOVILES DE ACCESO LIBRE

ROJO, Maria Cecilia[1] | STURM, Maria Elena[2] | CHIMENO, Selva Valeria[2] | VARGAS TRINIDAD, Andrea Susana[1] | LERENA, Maria Cecilia[1] | GONZALEZ, Magali[1]| MERCADO, Laura[2] | **COMBINA, Mariana** [2]

CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [2]

Introducción y Objetivos: La industria vitivinícola es una importante actividad económica para la región de Cuyo, donde los principales productos son los vinos y jugos de uva concentrados. Los mercados mundiales exigen cada vez mayor calidad y productos libres de defectos. Ambos productos pueden sufrir alteraciones y defectos por la acción de levaduras contaminantes. En vinos tintos *Bettanomyces bruxellensis* es la principal levadura alteradora y produce un defecto organoléptico asociado a aromas negativos como "fenólico", "establo" y "sudor de caballo". Por otro lado, la levadura *Zygosaccharomyces rouxii* es capaz de desarrollar y alterar los jugos de uva concentrados produciendo gas y alcohol. Esta alteración es la causa más frecuente de rechazos en destino de las partidas exportadas. Un producto defectuoso o alterado produce grandes pérdidas económicas para las empresas y daña la imagen del país obstaculizando futuras exportaciones. La prevención es el mejor camino para evitar estas contaminaciones. Como resultado de dos tesis doctorales, en nuestro laboratorio se han desarrollado dos modelos matemáticos de predicción para conocer el riesgo potencial para producir alteraciones o defectos asociados a estas levaduras en vinos y jugos de uva concentrados. Los modelos predictivos se construyeron considerando variables de los alimentos que pudieran medirse y modificarse en la industria como el pH, la concentración de etanol y SO_2 en los vinos; y pH y concentración de azúcares en los jugos de uva concentrados. Los modelos matemáticos han sido publicados y difundidos en cursos y capacitaciones, pero su utilización por parte de la industria ha sido muy limitado. Con el objetivo de brindar una herramienta de fácil acceso y uso para enólogos y productores se propuso desarrollar una aplicación móvil basada en los modelos para predecir el riesgo de alteración de estos productos.

Resultados: La aplicación desarrollada se denomina MICROWINE PREDICTOR. Para utilizar la misma el productor podrá introducir los valores de diferentes variables (acidez, etanol, dióxido de azufre y concentración de azúcar) de su propio producto en casillas destinadas y la aplicación estimará el riesgo o probabilidad que en el vino o en jugo de uva concentrado proliferen levaduras contaminantes. Además, esta herramienta incluye sugerencias para el diseño de estrategias de monitoreo y control para prevenir el deterioro. La aplicación MICROWINE PREDICTOR ha sido validada de manera exitosa en vinos y jugos de uva concentrados y actualmente se encuentra disponible para el Sistema Operativo Android y puede ser descargada gratuitamente desde Google Play, en su versión en español y en inglés, ya que puede ser aplicada en vinos y jugos concentrados elaborados en cualquier parte del mundo.

MI 170

0200 - DETECCION DE *BRETTANOMYCES* EN VIÑEDO Y SU RELACION CON LA ORIENTACION DE LAS HILERAS

STURM, Maria Elena[1] | SARI, Santiago[1] | ROJO, Maria Cecilia[2] | MERCADO, Laura[1] | PRIETO, Jorge Alejandro[1] | PEREZ PEÑA, Jorge[1] | **COMBINA, Mariana** [1]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [1]; CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [2]

Introducción y Objetivos: La levadura *Brettanomyces bruxellensis* es un microorganismo que altera la calidad de vinos tintos. Su origen primario son las uvas y su crecimiento se produce principalmente durante la crianza de los vinos en barricas, produciendo un defecto organoléptico descripto como "sudor de caballo", "fenólico" o "farmacéutico". Las condiciones microclimáticas de maduración de la uva varían con las decisiones vitícolas, pudiendo algunas de ellas favorecer su desarrollo. Una de esas decisiones es la orientación de plantación de las hileras del viñedo. Estas pueden generar distintas condiciones de radiación, temperatura y humedad durante la maduración de la uva. Estudios previos mostraron que los vinos de las cosechas 2017 y 2018 de la orientación EO presentaron defectos fenólicos asociados a la presencia de *Brettanomyces*. La presencia de la levadura fue confirmada por elevados recuentos mediante cultivo, mientras los vinos provenientes de las otras orientaciones no mostraron defectos y fueron negativos en los recuentos de *Brettanomyces*. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la orientación de hileras de plantación sobre la presencia y el desarrollo de *Brettanomyces bruxellensis* en uvas y vinos.

Materiales y Métodos: En un ensayo de orientación de hileras de plantación del cv. Malbec establecido en la EEA Mendoza INTA, se recolectaron muestras de uva en las orientaciones Norte-Sur (NS) y Este-Oeste (EO) en la vendimia 2019. Las muestras se tomaron de cada lado de las repeticiones de las orientaciones NS y EO y se realizó el recuento y aislamiento de *Brettanomyces* mediante enriquecimiento selectivo seguido de siembra en medio selectivo para *Brettanomyces*. Dos kilos de uva de cada orientación fueron vinificados a escala de piloto y los vinos fueron analizados físico-químicamente y sensorialmente para detectar el defecto fenólico mediante panel entrenado de INTA.

Resultados: La presencia de *Brettanomyces* no pudo ser demostrada en uvas luego de un enriquecimiento selectivo de 60 días. Sin embargo, recuentos positivos para *Brettanomyces* fueron registrados al final de la fermentación en todos los vinos elaborados para cada tratamiento, a pesar de que los mismos no presentaban defecto fenólico en esta etapa. El análisis sensorial realizado en los vinos luego de dos meses de embotellados, mostró defecto fenólico en aquellos elaborados con uvas provenientes de la orientación EO, siendo mayormente detectado en aquellos elaborados a partir de la uva cosechada del lado sur del viñedo.

Conclusiones: La orientación de plantación de las hileras del viñedo podría generar condiciones que predisponen para el crecimiento de la levadura *Brettanomyces*. Condiciones como las registradas en el lado sur de la orientación EO podrían favorecer su persistencia y desarrollo.

MI 171

0435 - PERSISTENCIA DE MODELOS VIRALES EN MATRICES ACUOSAS SINTÉTICAS QUE REPRESENTAN CONDICIONES AMBIENTALES REGIONALES

CORIMAYO, Sheila | MAIDANA KULESZA, Noel | GUTIÉRREZ CACCIABUE, Dolores | RAJAL, Verónica | POMA, Ramiro

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES PARA LA INDUSTRIA QUÍMICA (INIQUI)

Introducción y Objetivos: La persistencia de los microorganismos en ambientes acuáticos es un factor crucial que incide en el riesgo de que una población sufra efectos adversos para la salud. Esta persistencia depende de características del ambiente acuático como: contenido de materia orgánica y de partículas sólidas, conductividad, radiación solar y temperatura, entre otros. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue comparar la persistencia de P22 (fago de *Salmonella Typhimurium*) y PP7 (fago de *Pseudomonas aeruginosa*) en matrices acuosas sintéticas que representen diferentes condiciones ambientales, empleando técnicas de detección tradicional y metodologías moleculares.

Materiales y Métodos: Se recolectaron y clasificaron por tamaño sólidos del lecho del río Wierna (Salta); se seleccionó para este experimento la fracción más pequeña encontrada (<0,074 mm). Se prepararon matrices acuosas sintéticas con Buffer Fosfato Salino (PBS). Se realizó la propagación y titulación de dos modelos virales: P22 con genoma de ADN y PP7 con genoma de ARN. Éstos se sembraron en concentraciones conocidas en las matrices acuosas preparadas las que se sometieron a distintas condiciones ambientales. Se seleccionaron dos concentraciones de sedimentos (0,5 y 5 g/l), dos conductividades (0,15 y 1,5 mS/cm) y dos temperaturas (12 y 25 °C) para simular condiciones ambientales regionales determinadas en estudios previos. Se tomaron muestras de la superficie de las matrices a distintos tiempos para observar la cinética de inactivación y/o sedimentación. Luego de un tiempo se realizó una resuspensión de los sedimentos y se tomó una última muestra. La cuantificación se realizó por técnicas tradicionales (recuento de placas de lisis) para estimar la infectividad de los fagos y metodologías moleculares (qPCR en tiempo real) para determinar la persistencia de los ácidos nucleicos en las matrices estudiadas.

Resultados: La presencia de sedimentos en las matrices sintéticas expuestas a 25 °C produjo una desaparición más rápida de ambos fagos infectivos y un menor recuento de sus genomas, en comparación con las matrices a 12 °C. Valores elevados de conductividad incrementaron la persistencia del fago PP7 pero no de P22. El recuento de fagos no aumentó después de la resuspensión. El ADN genómico de P22 fue más persistente que los fagos infectivos, mientras que la persistencia del ARN genómico de PP7 fue semejante a la de sus partículas infectivas.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que no es necesario monitorear virus en los sedimentos de ambientes acuáticos de nuestra región, ya que la presencia de sólidos, no tiene una influencia en la supervivencia y acumulación de éstos en los lechos de cuerpos acuáticos. En un esquema de monitoreo ambiental, para virus de ADN se necesitará confirmar la infectividad mediante el uso métodos microbiológicos tradicionales; en cambio para virus de ARN, el empleo de métodos moleculares será suficiente para detectarlos y estudiar su persistencia.

MI 172

0129 - EVOLUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE LEVADURAS EN MOSTOS DE UVAS DE LAS VARIEDADES TANNAT Y MARSELÁN

CORRADO, María Belén | MONGELAT, Sandra | SOLDÁ, Carina Alejandra | DAVIES, Cristina Verónica | GERARD, Liliana Mabel

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA DE AGUAS Y ALIMENTOS, FAC. CS. DE LA ALIMENTACIÓN, UNER

Introducción y Objetivos: En la actualidad, existe una tendencia a producir vinos con identidad geográfica. En base a esto las levaduras autóctonas han sido propuestas como un factor clave en la tipicidad y complejidad de los vinos. La ecología microbiana de la uva incluye levaduras responsables de la fermentación alcohólica espontánea. Al comienzo de la misma, se encuentran las no-*Saccharomyces*, ya que son las predominantes en las uvas. Posteriormente, se desarrolla *Saccharomyces cerevisiae*, la cual resiste concentraciones de etanol más elevadas. Aunque existen estudios sobre la microbiota de las uvas, se conoce poco sobre la diversidad y el comportamiento de las comunidades de levaduras presentes en los mostos de uvas fermentados. El objetivo fue evaluar la población de levaduras en mostos fermentados de los cultivares Tannat y Marselán de la región de Concordia.

Materiales y Métodos: Se pesaron 300 g de uvas de las variedades Tannat y Marselán obtenidas de la vendimia 2019 de productores de la región de Concordia. Se procesaron en stomacher durante 20 segundos, se suplementó el mosto con 85mg/L metabisulfito de sodio y se dejaron fermentar espontáneamente a 25 ºC durante 10 días. Diariamente, se tomaron alícuotas para recuento de levaduras totales en agar YPDC (1%

extracto de levadura, 2% peptona, 2% glucosa, 1,5% agar con cloranfenicol), recuento de no-*Saccharomyces* en agar YPDC y cicloheximida (YPDCI) que inhibe *Saccharomyces* y agar diferencial WL (Oxoid). Se incubaron a 25°C durante 48 h. Paralelamente, se realizó el seguimiento de la fermentación espontánea determinando sólidos solubles (refractometría), pH (potenciometría) y acidez total, expresada como g/L de ácido tartárico (titulación potenciométrica).

Resultados: Durante la fermentación espontánea de los mostos, los sólidos solubles disminuyeron de 20,0 a 10,5 °Bx en la variedad Tannat y de 20,1 a 9,2 °Bx en Marselán. El pH osciló entre 3,52-3,44 y entre 3,53-3,25, respectivamente. La acidez inicial y final de los mostos varió de 6,0 a 8,7 g/L para Tannat y de 5,7 a 9,7 g/L para Marselán. Los colores de las colonias desarrolladas en agar WL permitieron monitorear las poblaciones de levaduras durante la fermentación espontánea: al inicio de la fermentación, para ambas variedades, se desarrollaron solo colonias verdes con borde blanco (*Hanseniaspora* spp.) correspondientes a levaduras no-*Saccharomyces* (7.10^3 UFC/g en YPDC y WL y en ambas variedades). Las levaduras *Saccharomyces* (colonias blancas en WL) se observaron el día 2 de fermentación en Marselán, alcanzando recuentos de 5.10^3 UFC/g en WL, mientras que el recuento total fue de 8.10^4 UFC/g. En cambio, en Tannat, las levaduras no-*Saccharomyces* se desarrollaron a partir del día 4 con valores de 3.10^3 UFC/g en WL y el recuento total llegó a 9.10^5UFC/g. Finalmente, en el día 7 de fermentación para las dos variedades, solo se aislaron levaduras *Saccharomyces*, tanto en WL como en YPDC, alcanzando recuentos de 5.10^6 UFC/g para Tannat y 10^3 UFC/g para Marselán. Durante la fermentación, el recuento de no-*Saccharomyces* en YPDCI se correspondió con las colonias verdes con borde blanco desarrolladas en WL.

Conclusiones: Este estudio proporcionó la primera información sobre la biodiversidad de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* asociadas a mostos de uvas fermentadas de las variedades Tannat y Marselán de la región de Concordia. La caracterización enológica de las mismas podría proporcionar cepas potenciales para ser utilizadas como inóculo en la producción de vinos que reflejen características de la zona.

CAMA - Microorganismos de deterioro y biofilms

MI 173

1021 - INVESTIGATING REAGENT CONTAMINATION AND ITS INFLUENCE ON DRINKING WATER MICROBIOME ANALYSIS

CRUZ, Mercedes Cecilia [1] | WOO, Yissue[2] | RAJAL, Veronica[1] | WUERTZ, Stefan[2]

INIQUI-CONICET, UNSA [1]; SINGAPORE CENTRE FOR ENVIRONMENTAL LIFE SCIENCES ENGINEERING [2]

Introduction and objectives: Drinking water (DW) is not sterile; it contains many microorganisms that can become primary colonizers, forming biofilms on the pipes. This may eventually degrade water quality and result in a public health risk. All microorganisms in the system form the so-called DW microbiome. Utilities need to understand the bioprocesses that allow biofilms to form and their potential to host microorganisms, so strategies can be developed to optimize operational activities. Thus, microbial community analysis using 16S rRNA gene amplicon sequencing has been widely adopted for studying DW microbiomes. However, this methodology has a limitation: since DW microbiomes have very low biomass, reagent DNA contaminants can impact our interpretation of these communities. Here, we aim to investigate the potential influence of DNA extraction methods and reagent contaminants on the determination of DW microbial community.

Materials and methods: 16S rRNA amplicon sequencing of a pure culture of *Enterococcus faecalis* was used to demonstrate the presence of contaminating DNA. We performed four rounds of serial ten-fold dilutions (10^8 cells in the undiluted sample, to 10^4 cells in the last dilution). Nucleic acids from culture, dilutions, elution buffers, and dilution water used were extracted using two commercial kits: FASTDNA kit (MP Biomedicals, FS) and BioFlux (BF). Two batches of the former kit were compared (FS1 and FS2), all kits were run by duplicates. The total extracted gDNA was then used for amplicon sequencing. The 16S rRNA genes were PCR-amplified using a primer set targeting the V4-V5 hypervariable region. The PCR amplicons were sequenced using the Illumina MiSeq platform, 300PE reads. The raw reads were quality trimmed and adapters were removed using cutadapt-1.2.1. Next, they were processed with the DADA2 pipeline, using chimera removal and Silva database for taxonomy assignment.

Results: In total 305 OTUs were detected. The most diluted samples (10^4 x) showed more OTUs, from 64 in the BF kit to 49 in the FS kit, suggesting contamination had occurred. *E. faecalis* was detected in all spiked samples. For the two kits, the undiluted and first dilution samples showed >99.3% of reads assigned to *E. faecalis*. However, in 10^4 x dilutions, the assignment dropped to 31% and 64% with BF and FS kits, respectively. *Ralstonia* was the main contaminant genus (up to 54% abundance) in the FS kit. Meanwhile, *Comamonas* was the most abundant contaminant (35.3%) in samples extracted with the BF kit, followed by *Ralstonia* (11.4%) and *Herbaspirillum* (10.34%). Interesting, high abundances of *Brochothrix* (29.7%) and *Aquabacterium* (12.9%) were found only with the FS1 batch.

Conclusions: This study provides evidence of DNA contamination in extraction kits. It varies greatly in composition among different kits and kit batches; thus, it could critically influence results obtained from samples with low microbial biomass. Many contaminant OTUs are also known to be present in DW samples, and we strongly advise to perform concurrent sequencing of negative control samples.

CAMA - Microbiología industrial, ambiental y biotecnología

MI 174

0723 - AISLAMIENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS DE PESCADO DE AGUA DULCE PARA SU USO EN PRODUCTOS PESQUEROS REFRIGERADOS

DALLAGNOL, Andrea Micaela [1] | VERA, Mariela Natalia[2] | PUCCIARELLI, Amada Beatriz[2] | VIGNOLO, Graciela Margarita[3]

INSTITUTO DE MATERIALES DE MISIONES (IMAM-CONICET) [1]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES, UNAM [2]; CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [3]

Introducción y Objetivos: Las bacterias lácticas (BL) están presentes en la microbiota del pescado y pueden prevalecer en los productos frescos suavemente conservados (lightly preserved fish products, LPFP). BL poco acidificantes cuidadosamente caracterizadas pueden ser utilizadas en LPFP como cultivo bio-protector. El objetivo de este trabajo fue aislar BL a partir de pescado de agua dulce y evaluar su crecimiento y pH en extracto crudo de pescado.

Materiales y Métodos: Se realizó el aislamiento de BL a partir de piel, agallas y carne de pescado fresco y congelado, obtenido de la piscicultura y captura en el río Paraná. Las especies de pescado y número de muestras utilizadas fueron: Pacú (*Piaractus* sp.), 2; surubí (*Pseudoplatistoma* sp.), 3; boga (*Leporinus* sp.), 3; tararia (*Hoplias* sp.), 1; y corvina de río (*Pachyurus* sp.), 1. Para el aislamiento de BL, cada muestra de pescado se dividió en dos, una mitad se analizó dentro de las 24 h y la otra mitad se guardó en bolsas con cierre hermético y se analizó después de 10 días a 6±1 °C. Muestras de pescado (25 g) homogeneizadas con agua peptona estéril (225 mL) fueron diluidas (1/10) e inoculadas en superficie en agar MRS y TSA. Todas las placas fueron incubadas en anaerobiosis a 6±1°C, 8 días. Además, placas de MRS fueron incubadas aeróbicamente a 29±1°C, 48 - 72 h. Para la identificación de BL, se realizó tinción de Gram, test de catalasa y estudios moleculares (RAPD-PCR y secuenciación del gen 16S). Las cepas aisladas fueron inoculadas (1 % v/v) en extracto crudo de surubí esterilizado por filtración. Se evaluó el crecimiento (densidad óptica a 600 nm) y pH de los cultivos luego de 96 h a 29±1°C.

Resultados: Los resultados demostraron que solamente el 10 % de las colonias picadas (373) eran compatibles con BL ya que eran Gram positiva/Catalasa negativa. Los estudios moleculares demostraron que alrededor de la mitad de estas cepas presentaban perfiles RAPD-PCR diferentes con los cebadores P16 (5'- TCG CCA GCC A -3') and M13 (5'-GAG GGT GGC GGT TCT-3'). La secuenciación del gen 16S con los cebadores universales 27F y 1492R demostró la presencia de *Carnobacterium divergens* (5 cepas), *C. inhibens* (2 cepas), *C. maltaromaticum* (6 cepas), *C. viridans* (1 cepa) y *Vagococcus salmoninarum* (2 cepas). El crecimiento de estas cepas en extracto de surubí fue variable permitiendo agruparlas en tres, cepas con crecimiento escaso (OD600= 0,16), moderado (OD600= 0,19-0,29) y alto (OD600=0,32-0,41). Por otro lado, el pH de los cultivos permitió agrupar las cepas en dos, cepas poco acidificantes (pH = 5,81 - 6,25) y cepas acidificantes (pH = 5,13 - 5,22).

Conclusiones: La microbiota láctica de pescado de agua dulce mostró un predominio de BL del género Carnobacterium entre las cuales se detectaron cepas de *C. maltaromaticum* con buen crecimiento y baja capacidad acidificante, adecuadas para su utilización en LPFP.

CAMA - Seguridad alimentaria, calidad, higiene, inocuidad

MI 175

0744 - SUPERVIVENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* EN EN MIEL DE YATEÍ (*TETRAGONISCA FIEBRIGI*) REFRIGERADA

PUCCIARELLI, Amada Beatriz [1] | MONGELOS, Guillermo[2] | MUZZIO, Antonella[2] | DALLAGNOL, Andrea Micaela[1]

INSTITUTO DE MATERIALES DE MISIONES (IMAM-CONICET) [1]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES, UNAM [2]

Introducción y Objetivos: La miel de yateí, recientemente incorporada al Código Alimentario Argentino, se produce ampliamente en la región norteña de nuestro país, siendo una importante alternativa comercial para numerosos productores. En la actualidad, esta miel se comercializa sin tratamientos de conservación a pesar que puede contener enterobacterias e incluso *Escherichia coli* (Schvezov y col. 2017). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la refrigeración sobre la supervivencia de *E. coli* en miel de yatei.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 100 mL de miel comercialmente obtenida en ferias regionales. Esta miel fue fraccionada (20 g) en tubos estériles con cierre hermético e inoculada con diferentes concentraciones de *E. coli* (UFC/g): 10^2, 10^3, 10^4 y 10^5. Para ello se utilizó un cultivo overnight en caldo TSB de *E. coli* previamente aislada de miel de yateí. Se realizaron diluciones decimales en solución fisiológica a los efectos de inocular cada muestra de miel con 200 µL. La concentración de bacteria que fue inoculada en la miel se corroboró en TSA. Las muestras de miel inoculadas fueron conservadas a 5±1°C. A los 0, 3, 6 y 8 días (t0, t3, t6 y t8) se tomaron muestras para el recuento de *E. coli* por el método del NMP/g, utilizando caldo Lauril Sulfato (35ºC 24-48h), caldo EC (44,5ºC, 24-48h) y agar Chromobrit.

Resultados: Los resultados mostraron una elevada supervivencia de *E. coli* en la miel refrigerada dependiente de la concentración inicial. Las mieles que contenían el inoculo más bajo ($1x10^2$) mostraron desarrollo ($9x10^0$ NMP/g) solamente el primer día (t0), mientras que aquellas inoculadas con el inoculo más alto ($1x10^5$) mostraron desarrollo desde el primer día ($9x10^3$) hasta el sexto día ($2.3x10^1$).

Conclusiones: La refrigeración directa de la miel de yateí, sin la aplicación previa de métodos alternativos de conservación, no es recomendable ya que permite la supervivencia de *E. coli*.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

MI 176

0759 - ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DE *CARNOBACTERIUM MALTAROMATICUM* EN EXTRACTO CRUDO DE SURUBÍ (*PSEUDOPLATISTOMA* SPP.)

DALLAGNOL, Andrea Micaela [1] | GAMARRA ESPÍNDOLA, Natalia[2] | VIGNOLO, Graciela Margarita[3] | PESCUMA, Micaela[3]

INSTITUTO DE MATERIALES DE MISIONES (IMAM-CONICET) [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE ITAPÚA (UNI) [2]; CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [3]

Introducción y Objetivos: Las bacterias lácticas (BL) pueden incrementar el valor nutricional y/o las propiedades organolépticas de los alimentos por liberación de péptidos y aminoácidos. *Carnobactrium maltaromaticum* es una BL presente en alimentos con alto contenido proteico como la carne de pescado. Esta especie puede ser utilizada como cultivo bio-protector en productos pesqueros suavemente conservados (lightly preserved fish products, LPFP). Sin embargo, el efecto de *Carnobacterium* sobre la hidrólisis de proteínas de pescado no ha sido exhaustivamente estudiado. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la degradación de proteínas en extracto crudo de surubí (*Pseudoplatistoma* spp.) inoculado con cepas de *C. maltaromaticum*.

Materiales y Métodos: Se utilizaron cuatro cepas (H-17, S-30, B-42 y S-44) previamente aisladas de pescado de agua dulce y seleccionadas por su crecimiento y baja capacidad acidificante en extracto crudo de surubí (ECS). Los cambios proteolíticos observados en ECS luego del período de incubación (96 h, 29 ± 1°C) fueron evaluados por métodos colorimétricos (o-ftaldialdehído y Bradford); electroforéticos (SDS-PAGE) y cromatográficos (RP-HPLC). Como control se utilizó ECS estéril sin inocular.

Resultados: Los resultados demostraron que los ECS inoculados con las cepas S-30 y S-44 mostraron el mayor incremento de proteínas solubles (PS = 124 y 137 mg/100mL) y disminución de péptidos libres (PL = 46 y 49 mg/100mL). El control sin inocular también mostró incremento de PS (57 mg/100mL) y disminución de PL (26 mg/100mL) luego de 96 h de incubación. Los geles de SDS-PAGE de las muestras inoculadas presentaron disminución de intensidad de las bandas ubicadas entre 31 - 41 kD y presencia de una nueva banda de degradación (aprox. 35 kD), ausente en el control. Los perfiles de péptidos libres obtenidos por RP-HPLC de muestras inoculados mostraron aparición de péptidos nuevos y degradación de péptidos originalmente presentes. El control también mostró cambios menores en el tamaño de algunos péptidos originalmente presentes, luego de 96 h. Los perfiles de aminoácidos de las muestras inoculadas mostraron incremento de alanina, glutamato, asparagina, glicina y arginina, y disminución de aspartato, serina e histidina, siendo el balance neto siempre positivo. La cepa S-44 mostró el valor más alto (21,38 mg/100mL) de aminoácidos totales libres a expensas principalmente de alanina (17,84 mg/100mL). El control no mostró diferencias en la concentración de aminoácidos luego de 96 h, excepto alanina que duplicó su valor (7,45 mg/100mL).

Conclusiones: Se concluye que las cepas de *C. maltaromaticum* presentan una moderada actividad proteolítica demostrable por cambios en los perfiles de proteínas, péptidos y aminoácidos. Estas cepas podrían ser utilizadas para mejorar las propiedades nutricionales y organolépticas de los LPFP.

CAMA - Microbiología industrial, ambiental y biotecnología

MI 177

0039 - VINAGRE BALSÁMICO DE ARÁNDANOS OBTENIDO CON *ACETOBACTER PASTEURIANUS* AUTOCTONAS

DAVIES, Cristina Verónica | GERARD, Liliana Mabel | SOLDA, Carina Alejandra | CORRADO, María Belén | SEGOVIA, Sebastián | MONGELAT, Sandra

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA DE AGUAS Y ALIMENTOS, FAC. CS. DE LA ALIMENTACIÓN, UNER

Introducción y Objetivos: Los vinagres balsámicos se elaboran a partir de la mezcla de mosto cocido de uvas y vinagre de vino con agregado de caramelo. Si bien carecen de la complejidad del sabor y la elevada viscosidad del Aceto Balsámico Tradicional de Módena, en los últimos años han sido ampliamente aceptados como productos gourmet. La región de Salto Grande se caracteriza por la producción de arándanos, frutos ricos en compuestos bioactivos tales como antocianinas (AT) y fenoles totales (FT). A causa de los altos niveles de descartes de fruta en buen estado sanitario se planteó la elaboración de vinagre balsámico de arándanos como alternativa de industrialización. Los objetivos del trabajo fueron desarrollar un vinagre balsámico de arándanos (VBA) a partir de la mezcla de vinagre de arándanos (VA) y mosto concentrado de estas bayas (MCA) y analizar la evolución de los compuestos bioactivos, AT y FT, en diferentes etapas del proceso como indicadores de calidad nutricional.

Materiales y Métodos: El sustrato para los procesos fermentativos se obtuvo a partir de un escaldado, triturado y posterior filtrado de arándanos (Vaccinium corymbosum) maduros de la región. En primer lugar se desarrolló la fermentación alcohólica con *Saccharomyces bayanus*. Luego, el proceso de acetificación se realizó en biorreactor de laboratorio utilizando *Acetobacter pasteurianus* aislada de arándanos de la zona en trabajos previos de este grupo de investigación. Para reducir el riesgo de inhibición por sustrato y represión catabólica se empleó un sistema batch con alimentaciones programadas sucesivas. La concentración del mosto se efectuó en evaporador rotatorio a fin de conservar los componentes bioactivos. Por último, a partir de un balance de materia, se preparó VBA con la mezcla de VA y MCA hasta 6% p/v de acidez total y 25% p/v de azúcares reductores. Se realizaron determinaciones de AT y FT en: materia prima, sustrato alcohólico (SA), VA, MCA y VBA. El análisis estadístico se realizó con software Statgraphics Centurión XV Corporate, mediante Análisis de Varianza y Contraste Múltiple de Rango.

Resultados: Los contenidos de AT y FT se redujeron en cada estadio analizado hasta la obtención de VA llegando a una disminución total de 99,5 y 63,7% respectivamente, lo que se atribuyó a la fuerte degradación fenólica causada por la aireación y la extensión del proceso biooxidativo. Por otro lado, a causa de la etapa de concentración del mosto de arándanos en condiciones de vacío, ambos parámetros se incrementaron 44 y 63% respectivamente. De esta manera, en virtud de la mezcla de VA y MCA, el producto resultante VBA presentó mayores contenidos de los componentes bioactivos: la concentración de AT fue de 284,25±19,12 mg cianidina–3–glucósido/L y la de FT fue 288,72±3,79 mg de equivalentes de ácido gálico/100 mL, valores similares a los determinados en SA.

Conclusiones: Si bien los componentes antioxidantes evaluados resultaron afectados negativamente en cada etapa de producción del vinagre, el agregado de mosto concentrado permitió mejorar su calidad nutricional sin modificación significativa de sus características organolépticas.

CAMA - Microorganismos de deterioro y biofilms

MI 178

0314 - FORMACIÓN DE BIOFILM EN AISLADOS *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA OBTENIDA DE CARNE MOLIDA COMERCIALIZADA EN ASUNCIÓN-PARAGUAY.

FLORENTÍN CANDIA, Melisa | SALINAS, Claudia | ACUÑA, Patricia | ROJAS, Natalia | RODRÍGUEZ ACOSTA, Fátima | **GUILLÉN, Rosa**

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* productora de Toxina Shiga (STEC) es un patógeno humano de importancia alimentaria que causa un amplio espectro de enfermedades que varían desde casos leves tal como la diarrea simple a casos más graves como la colitis hemorrágica (CH) o síndrome urémico hemolítico (SUH). Ciertas cepas STEC tienen la capacidad de formar biofilm en alimentos y otras superficies, aumentando su potencial como fuente de contaminación. La portación de los genes *fimH*, *flu* y *csgA* se han asociado a la capacidad de formación de biofilm en *E.coli*. El ganado bovino es el reservorio más importante de STEC, que se

transmite a los humanos a través de alimentos contaminados con su materia fecal, por ejemplo, carne molida de res, leche no pasteurizada, entre otros. Este estudio observacional descriptivo de corte transverso se realizó con el objetivo de determinar la capacidad de formación de biofilm y describir la portación de genes involucrados en la formación del mismo en aislados STEC provenientes de muestras de carne molina de res comercializada en Asunción en el 2016.

Materiales y Métodos: Se analizaron muestras de carne de res de 24 carnicerías y aquellas positivas para los genes *stx1/2* por PCR a tiempo real, seleccionando las de menor CT para aislamiento de *E. coli*. Se incluyeron en el presente estudio el 100% (n: 12) de aislados STEC provenientes de más de 150 aislados *E.coli*, que se encuentran criopreservados en el biobanco del IICS. La formación de biofilm se determinó por ensayos in vitro en microplacas de poliestireno de forma triplicada para cada aislado y la detección de los genes *fluA*, *fimH* y *csgA* se realizó por PCR. Se aplicó la regla de Stepanovic et al., 2000 para clasificar la formación de biofilm en no formador, débil formador, moderado formador y fuerte formador según el valor de OD de corte calculado.

Resultados: Se detectó el 100% de los genes *fimH*, *csgA* y *flu* en los aislados en estudio, además todos los aislados mostraron capacidad de formar biofilm y se clasificaron en 25% (n: 3) como formadores moderados y 75% (n: 9) como fuerte formador de biofilm.

Conclusiones: La elevada frecuencia de portación de genes asociados a biofilm, así como la capacidad de formación de éste in vitro pone de manifiesto el potencial de estos aislados de persistir en superficies pudiendo ser un factor importante de contaminación de alimentos en los sitios de expendio a tener en cuenta.

CAMA - Educación, Preservación, Acreditación, Legislación

MI 179

0634 - TIC PARA INTEGRAR LA ENSEÑANZA TEÓRICO PRÁCTICA DE HIGIENE DE ALIMENTOS

FORTUNATO, María Susana | GARCÍA LÓPEZ, Guadalupe | GONZÁLEZ, Ana Julieta | BARONI, Sabina | ROSSI, Susana Lilian | KOROL, Sonia Edith | GALLEGO, Alfredo

CÁTEDRA DE SALUD PÚBLICA E HIGIENE AMBIENTAL. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UBA

Introducción y Objetivos: La incorporación de tecnología en educación hace necesario pensar en estrategias de enseñanza que posibiliten mejorar los vínculos con el conocimiento. La creación de ambientes de aprendizaje a través de un sitio Web, puede ser una herramienta válida como estrategia de enseñanza. Wix es una plataforma online que permite crear y publicar un sitio Web que puede insertarse con facilidad en la plataforma Moodle del campus virtual. Ofrece posibilidades de reproducir distintos tipos de archivos dentro de la misma herramienta. Dentro de las unidades dictadas en la asignatura Salud Pública e Higiene Ambiental de la Carrera de Farmacia de la Universidad de Buenos Aires se incluye higiene de los alimentos. Los contenidos se abordan de modo teórico-práctico, sin embargo, el dictado no necesariamente se transforma en un aprendizaje significativo ya que los trabajos prácticos se reducen a una actividad que sólo reproduce técnicas. En la búsqueda de diseñar clases más participativas y pensando en la enseñanza para el aprendizaje, el objetivo de este trabajo fue rediseñar la unidad de modo que el alumno intervenga activamente en el diseño e interpretación del trabajo práctico.

Materiales y Métodos: La actividad se presentó en una página Web en Wix que se alojó en el espacio del Campus Virtual de la asignatura (https://sufortunato2k.wixsite.com/tpalimentos). La introducción al tema se realizó a través de un caso de enfermedad transmitida por alimentos debido al consumo de hortalizas crudas. La actividad consistió en un juego de rol donde los alumnos asumieron el papel de analistas a los que se les encargó la realización del control de calidad microbiológica de hortalizas frescas. Durante la semana previa al trabajo práctico presencial, los alumnos diseñaron en grupos el protocolo asistidos por el docente, disponible como tutor en un foro del campus. El diseño incluyó también la selección de los medios de cultivo, para ello contó con bibliografía complementaria virtual. En el trabajo práctico se procesaron muestras provistas por los alumnos de distintas verdulerías de la CABA y alrededores. Los alumnos interpretaron los resultados y elaboraron un informe en base a modelos, y se los asistió en forma virtual. Los resultados obtenidos por los grupos de todas las comisiones fueron puestos en común a través de un vínculo a una planilla de cálculo de Google Drive.

Resultados: Los resultados obtenidos mostraron un mayor interés de los alumnos, que se sintieron protagonistas de su propio aprendizaje, incrementando su compromiso y autonomía. Además, se obtuvo más participación en los foros con aportes significativos, y una mayor concurrencia voluntaria para las tareas de seguimiento de las muestras. Asimismo, la puesta en común de los resultados permitió poner de manifiesto la calidad higiénico sanitaria real de las verduras disponibles en el comercio y la importancia de su lavado y desinfección.

Conclusiones: Según Onrubia la calidad de un entorno virtual no depende sólo de las TIC, sino del modo en que las actividades se organizan, combinan y secuencian para promover que alumnos y profesores se impliquen en el proceso. En este sentido la metodología empleada permitió plantear problemas y generar discusiones en las que se respetó la opinión del alumno y se favoreció el trabajo colaborativo.

CAMA - Metabolitos microbianos

MI 180

0485 - PRODUCCIÓN DE BACTERIOCINAS CON ACTIVIDAD ANTI-*LISTERIA MONOCYTOGENES* EN MEDIOS DE CULTIVO ALTERNATIVOS

GUITIÁN, María Virginia[1] | SORIA, María Cecilia[2] | AUDISIO, Carina[3] | **IBARGUREN, Carolina** [4]

INIQUI-CONICET. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA [1]; INIQUI-CONICET/FACULTAD INGENIERÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA [2]; INIQUI-CONICET/ FACULTAD CS EXACTAS / FACULTAD INGENIERÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA [3]; INIQUI-CONICET/ FACULTAD CS SALUD. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA [4]

Introducción y Objetivos: Las bacteriocinas, péptidos antimicrobianos sintetizados por bacterias lácticas, tienen un papel importante como biopreservantes de alimentos para el control de *Listeria monocytogenes*. Su producción es poco rentable, principalmente por el elevado costo de los medios sintéticos y suplementos nutricionales utilizados para el crecimiento de los microorganismos productores. Por este motivo, es primordial disponer de medios de bajo costo, que además sean formulados con sustratos de grado alimenticio, para asegurar una mejor aceptación legal. Además, el diseño de medios a partir de subproductos de la industria de alimentos contribuye a reducir contaminantes y maximizar la rentabilidad de las materias primas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el crecimiento y la producción de bacteriocinas de la cepa *Enterococcus avium* DSMZ17511 en medios de cultivo alternativos formulados con sustratos económicos de grado alimenticio, con el fin de obtener preparados de bacteriocinas con potencial aplicación como biopreservantes de alimentos

Materiales y Métodos: Se probaron inicialmente diferentes ingredientes como sustratos: Borra de vino líquida (BV), Harina de soja (HS), Harina de quinoa (HQ), Levadura de cerveza deshidratada (LCD), Levadura líquida (LCL), Suero de queso deshidratado (SQ), Concentrado de proteínas de suero 35% (WPC). Luego de ensayar la producción de bacteriocinas con cada ingrediente de forma individual, en diferentes concentraciones y combinaciones de los mismos, se seleccionaron tres medios de cultivo formulados de la siguiente manera: medio HQ3-LCD5 (HQ 3 %p/v y LCD 5 %p/v), medio HQ3-HS3 (HQ 3 %p/v y HS 3 %p/v) y medio HS3-LCD5 (HS 3 %p/v y LCD 5 %p/v). Se utilizó caldo BHI como medio de cultivo control. La cepa productora de bacteriocinas se inoculó en cada medio y se incubó a 37 °C durante 20 h. Se determinó la viabilidad y la producción de bacteriocinas en el sobrenadante libre de células (SLC) recuperados a cada tiempo (0, 2, 4, 6, 15, 17, 20 y 24 h) mediante la prueba de difusión en agar, usando *L. monocytogenes* 99/287 como cepa indicadora. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Resultados: Con respecto al crecimiento, se observó que la viabilidad de la cepa DSMZ17511 fue mayor en caldo BHI, mientras que la fase de latencia fue más prolongada en los medios HQ3-LCD5 y HS3-LCD5. En cuanto a la producción de bacteriocinas, se determinó que, si bien la actividad antimicrobiana fue mayor inicialmente para los SLC recuperados en BHI; a partir de las 15 h de incubación, los medios alternativos mostraron una producción de bacteriocinas similar a la observada en el medio comercial

Conclusiones: Estos medios alternativos resultan más económicos y serían por lo tanto rentables para la producción y potencial aplicación de las bacteriocinas recuperadas como biopreservantes de alimentos, si se tiene en cuenta que estos péptidos presentan actividad en concentraciones nano y hasta picomolares.

CAMA - Microbiología industrial, ambiental y biotecnología

MI 181

0524 - POTENTIAL ANTAGONISM OF LACTIC ACID BACTERIA FROM RAW MILK TO *PSEUDOMONAS* SP.

MACZUGA, Juliana Maria | GALVÃO, Julia Arantes

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Introduction and objectives: Presence of spoilage microorganisms in food may affect the taste, odor, texture, and appearance, reducing his shelf life. Among the deteriorating spoilage agents in milk

are *Pseudomonas* spp. The bacteria isolation in raw milk is usual, frequently associated with environmental contamination during or after milking. Some species of lactic acid bacteria (LAB), usually present in natural milk microbiota, are able to produce substances with potential interest to human health and food safety, such as proteases, peptidases, and bacteriocins by making an antagonist effect in other microorganisms. In this way, the aim in this survey was to isolate *Pseudomonas* spp. and LAB strains from in raw milk samples at rural properties in Sao Jose dos Pinhais, Parana, Brazil, and to verify the inhibitory potential of isolated LAB species to *Pseudomonas* spp. development *in vitro*.

Materials and methods: The *Pseudomonas* spp. and LAB were isolated and purified, hence antagonism tests were performed by multilayer methodology. In addition to the controls, punctual inoculum plates (5µ) were prepared for each LAB strain previously cultured in BHI medium, inoculated in 8 ml of *De Man, Rogosa and Sharpe* (MRS) (Kasvi®) surface, shaping spots. The plates were incubated at 35ºC for 48h in aerobiosis. Therefore, plates were submitted to two different ways: inverted plates, which their caps filled with chloroform for 30 minutes, aiming to eliminate bacteria cells present and keep the produced substances produced during the incubation period; and in other plates, there was no intervention. Accordingly, 8 ml of semi-solid BHI Agar, containing 1.5x10 8 *Pseudomonas* spp., was poured onto the plates containing the spots and incubated at 35 ° C for 24 hours in aerobiosis.

Results: There were found three strains of LAB and one from Pseudomonas. All LAB strains inhibited the *Pseudomonas* spp., evidenced by no colony growth or turbidity in agar.

Conclusions: These tree LAB strains isolated from the sampled raw milk presented antagonism against *Pseudomonas* spp. Studies involved mechanisms of action may be performed, as do as the final strain characterization in order to improve food quality and safety of dairy products and other products.

MI 182

0525 - ANTAGONIST POTENTIAL FROM RAW MILK LACTIC ACID BACTERIA TO SAME ORIGIN *LISTERIA MONOCYTOGENES*

MACZUGA, Juliana Maria | GALVÃO, Julia Arantes

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Introduction and objectives: *Listeria monocytogenes* is a foodborne pathogen, associated with invasive symptomatology specially in high risk factors groups. The main transmission rout is the diet, including meat, vegetable and dairy products. (Listeria) sp. is an ubiquitous microorganism and have been found in several environments, food, animals and water. The bacteria is versatile, able to growth in adverse environments. Among its survival mechanisms is the ability to tolerate refrigeration temperatures and biofilm formation, acquiring importance in milk and dairy products, as do as at milking environments, compromising the food safety. Some lactic acid bacteria (LAB) species, component of natural milk microbiota, are able to produce substances of potential interest to human health and food safety, such as proteases, peptidases and bacteriocins. These substances may produce an antagonistic effect in growth of other microorganisms. In this way, the aim with this work was acquire strains of *Listeria monocytogenes* and lactic acid bacteria from raw milk samples from rural properties in São Jose dos Pinhais, Parana, Brazil, and verify the inhibitory potential of isolated BAL species on the development of *Listeria monocytogenes* in vitro.

Materials and methods: *Listeria monocytogenes* and LAB were isolated and purificated, thus antagonism tests were performed according to multilayer methodology. In addition to the controls, punctual inoculum plates (5µ) were prepared for each LAB strain previously cultured in brain heart infusion (BHI), in 8 ml of *De Man, Rogosa and Sharpe* (MRS) (Kasvi®) surface, forming spots. The plates were incubated at 35ºC for 48h in aerobiosis. Them, plates were submitted to two different realities: inverted plates, which their caps filled with chloroform for 30 minutes, aiming to eliminate bacteria cells present and keep the substances produced by them during the incubation period; in other plaques there was no intervention. Then, 8 ml of semi-solid BHI Agar, containing $1.5x10^8$ (*Listeria monocytogenes*), was poured onto the plates containing the spots, and incubated at 35 ° C for 24 hours in aerobiosis.

Results: no LAB strain inhibited *Listeria monocytogenes* growth, evidenced by turbidity of agar and subsequent pathogenic bacterium recovery of same medium.

Conclusions: It was concluded that lactic acid bacteria isolated from the sampled raw milk are not able to produce any inhibition against *Listeria monocytogenes*, contrary to similar studies.

MI 183

0618 - CONDICIONES DE EFECTIVIDAD DEL SORBATO DE POTASIO COMO CONSERVANTE FÚNGICO EN PANIFICADOS.

CHAMORRO, Antonella Ayelen | MARCHESSI, Nicolas Carlos | TREJO, Nora Graciela | GALIAN, Liliana Rosa

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOMAS DE ZAMORA.

Introducción y Objetivos: En la industria de panificados las contaminaciones fúngicas en etapas criticas como desmolde, enfriado y envasado son desencadenantes de enmohecimiento temprano en góndola provocándo a la empresa un perjuicio económico, con pérdida de competitividad. Aun aplicando conservantes en el elaboración y en el desmolde la empresa no se asegura la vida útil hasta la fecha de vencimiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de conservación del sorbato de potasio aplicado por aspersión durante el desmolde del pan, y su potenciación en un pH menor a 5.

Materiales y Métodos: Los ensayos se realizaron sobre pan industrial con pH de 5,22 (medido con phmetro digital AZ8651, con electrodo de contacto Hanna), un contenido de humedad de 44% y con sorbato de potasio como conservante en una concentración de 0,03%. Con fecha de vencimiento a los 12 días posteriores a la elaboración. Para evaluar la efectividad en la inhibición del enmohecimiento se inoculo con cepas de *Aspergillus* sp. y *Penicillum* sp. aisladas de aire y superficies del establecimiento elaborador, y mantenidas en nuestro laboratorio. Estas cepas presentan alta incidencia en las devoluciones. El experimento se realizó con los siguientes tratamientos por triplicado: sobre pan sin acidificar: T1: Inoculación con *Aspergillus* sp. T2: *Penicillum* sp T3: *Aspergillus* sp + *Penicillum* sp. y sobre pan acidificado con una solución de ácido acético al 3% hasta obtener un pH de 4,8 T4: Inoculación con *Aspergillus* sp T5: *Penicillum* sp T6: *Aspergillus* sp + *Penicillum* sp. Se incubaron a temperatura ambiente emulando condiciones de venta y se observó diariamente el desarrollo miceliar.

Resultados: Los tratamientos sobre pan sin acidificar T 1, T2 y T3 presentaron enmohecimiento (crecimiento visible del moho en superficie) a los 5 de iniciado el ensayo mostrando de escasa a nula oposición al desarrollo miceliar. En los tratamientos de pan acidificado T4, T5 y T6 no se observó desarrollo durante los 30 días del ensayo. En el pan acidificado se denota un claro efecto inhibidor del crecimiento fúngico logrando mantener la preservación del alimento un 150% por encima del tiempo de vida útil establecido.

Conclusiones: Se determinó que el sorbato de potasio al 0.03% es efectivo como inhibidor fúngico en el pan a un pH 4,8 para las cepas probadas.

MI 184

0201 - EVOLUCIÓN DE LA DIVERSIDAD DE LEVADURAS *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* DE UN MISMO VIÑEDO EN VENDIMIAS DIFERENTES

GONZÁLEZ, Magalí Lucía[1] | CHIMENO, Selva Valeria[2] | LERENA, María Cecilia[1] | COMBINA, Mariana[2] | **MERCADO, Laura** [2]

CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [2]

Introducción y Objetivos: La vitivinicultura es una actividad de amplia trayectoria e impacto económico en Mendoza, siendo Malbec la variedad argentina emblemática y la Zona Alta del Río Mendoza (ZARM), la región más favorable para su producción. Es un aspecto conocido que las levaduras juegan un rol fundamental en la definición de las características de los vinos. Valorar la diversidad de las poblaciones de levaduras *S. cerevisiae* en una región es el punto de partida para el agregado de valor y la diversificación de la producción vitivinícola. En este trabajo se estudiaron las poblaciones de *S. cerevisiae* en un viñedo Malbec de la ZARM durante tres vendimias, con el fin de evaluar la diversidad intraespecífica presente, su persistencia y la relación de esta biodiversidad con las condiciones meteorológicas de cada vendimia.

Materiales y Métodos: Se seleccionaron diez sectores del viñedo y se tomaron muestras de uvas en las vendimias 2004, 2010 y 2011 (V04, V10 y V11). Las uvas se descobajaron, molieron e incubaron a 25ºC para permitir su fermentación espontánea. Las levaduras *S. cerevisiae* se aislaron en medio WL y se tipificaron intra-específicamente por PCR interdelta. Se utilizó el software PAST 3.21 para estimar 3 índices de diversidad (1-% diversidad, calculado como la relación entre número de patrones moleculares y número de aislamientos; 2-índice de Shannon o H´ y 3- índice inverso de Simpson o 1 - D) y para el análisis multivariado de los datos meteorológicos normalizados, de los parámetros: Temperatura máxima, media y mínima del aire, Humedad Relativa, Nubosidad, Evaporación, Presión de Vapor, Precipitación y Velocidad Media del viento.

Resultados: Cada vendimia se caracterizó por un cambio completo en la composición de la población de *S. cerevisiae*, con aparición de nuevas cepas. Un total de 363 *S. cerevisiae* aislados produjeron 58 patrones moleculares diferentes. V04 presentó una alta diversidad mientras que V10 y V11 mostraron niveles bajos de polimorfismo. Los valores de H´, que evalúa la diversidad considerando la riqueza y equitatividad en los genotipos, fueron mayores de 2,35 siendo intermedios y se verificó diferencias significativas entre V04 y V10 y V11. Las tres cosechas exhibieron valores similares en 1- D, índice que evalúa la dominancia, lo que refleja que en cada vendimia, la mitad de los aislamientos se agruparon en dos o tres patrones moleculares. Las tres cosechas se diferenciaron principalmente en Humedad Relativa y temperatura mínima. Las vendimias

consecutivas (V10 y V11) aparecieron claramente separadas, lo que indica que las diferencias en presencia, número y abundancia relativa de los patrones moleculares de *S. cerevisiae* encontrados entre ellas tienen correlación con diferentes condiciones ambientales. Por otro lado, V04 mostró una combinación intermedia de condiciones ambientales que podría haber favorecido la gran diversidad mencionada.

Conclusiones: Se verificó el impacto de las condiciones meteorológicas fluctuantes año a año en la biota del ecosistema viñedo.

MI 185

0273 - IDENTIFICACIÓN DEL ORIGEN DE CONTAMINACIÓN DE VINOS CON *BRETTANOMYCES*

STURM, María Elena[1] | CHIMENO, Selva Valeria[1] | GONZÁLEZ, Magalí Lucía[2] | MERCADO, Laura[1] | **COMBINA, Mariana** [1]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [1]; CONICET [2]

Introducción y Objetivos: *Brettanomyces bruxellensis* es la principal levadura contaminante de vinos tintos, produce fenoles volátiles que le confieren al vino características organolépticas negativas causando importantes pérdidas económicas en la industria. Esta levadura es frecuentemente detectada en etapas finales de la elaboración y crianza del vino. Aunque ha sido descripta originalmente como parte de la microbiota epífita de la superficie de la uva, su aislamiento es difícil debido a su lento crecimiento. Existe una asociación empírica entre algunos viñedos y la aparición de defectos fenólicos en los vinos elaborados a partir de ellos. El objetivo del presente trabajo fue identificar el origen de la contaminación con *Brettanomyces* evaluando su presencia desde la uva a la bodega, y por otro lado detectar las etapas críticas en las cuales se produce la contaminación.

Materiales y Métodos: Se trabajó con 4 viñedos, dos de ellos seleccionados por reiterada aparición de defecto fenólico en los vinos elaborados a partir de sus uvas; los otros dos viñedos estaban lindantes y fueron considerados como control. Se muestrearon las uvas y diferentes etapas durante la vinificación y crianza de los vinos. En uvas el aislamiento de *Brettanomyces* se realizó mediante enriquecimiento selectivo durante 60 días y en vinos por filtración. Las muestras fueron sembradas en medio de cultivo selectivo *Brettanomyces*. Colonias representativas fueron identificadas molecularmente a nivel de especie y cepa mediante RFLP-PCR (DB90F-DB394R) y RAPD (M13) respectivamente.

Resultados: Solo pudo detectarse la presencia de *Brettanomyces* en una única muestra de uva, la cual correspondió a uvas que estaban dañadas en el momento de muestreo. Por el contrario, cuando las uvas fueron vinificadas en bodega, *Brettanomyces* fue detectada en diferentes etapas de la vinificación de 3 de los 4 viñedos muestreados. Se observó un marcado aumento en la población de *Brettanomyces* luego de finalizada la fermentación alcohólica y durante la fermentación maloláctica. El patrón molecular encontrado en la uva, no fue detectado luego en etapas de elaboración en bodega. Se evidenció la presencia reiterada de 4 cepas de *Brettanomyces* (patrones moleculares II, V, X, y XI) las cuales fueron detectadas en diferentes muestras de vino, tanto de la etapa de vinificación como durante la crianza, siendo aisladas en muestras provenientes de distintos viñedos. La práctica de vaciado, homogenización y rellenado de barricas realizada en la bodega produjo la diseminación de la contaminación en las barricas que fueron mezcladas.

Conclusiones: No podemos descartar que el origen de *Brettanomyces* en los viñedos, pero los resultados sugieren que podría existir una población de *Brettanomyces* residente en bodega que contamina reiteradamente los vinos elaborados, tanto en etapas tempranas de la vinificación, como durante la conservación. Algunas prácticas utilizadas por la bodega podrían favorecer la diseminación y multiplicación de *Brettanomyces*.

MI 186

0189 - EFECTO INHIBITORIO DE LEVADURAS EPÍFITAS DE UVA PARA VINIFICAR SOBRE LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS DE *ALTERNARIA ALTERNATA*

PRENDES, Luciana Paola[1] | **MERÍN, María Gabriela** [1] | PEREYRA, Anabela[2] | RAMIREZ, María Laura[3] | MORATA DE AMBROSINI, Vilma Inés[1]

FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS A LA INDUSTRIA, UNCUYO/CONICET [1]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES, UNRC [2]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES, UNRC/CONICET [3]

Introducción y Objetivos: El control fúngico resulta la estrategia más efectiva para controlar la presencia de micotoxinas en alimentos. El género *Alternaria*es componente mayoritario de la micobiota de uva para vinificar en distintas regiones vitivinícolas de Argentina y del mundo. En estudios previos se observó que cepas de *Alternaria alternata* aisladas de uva Malbec eran capaces de producir alternariol (AOH), alternariol

monometil eter (AME) y ácido tenuazonico (ATe) *in vitro* y que además exhibían patogenicidad y producción de ATe en uva para vinificar. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto inhibitorio de 5 levaduras epífitas de uva para vinificar sobre la producción de AOH, AME y ATe por parte de 3 cepas toxicogénicas y patogénicas de *A. alternata* (5.5, 7.5 y 25.1) en un medio sintético de composición similar a la uva (MSU) a 3 temperaturas (15, 25 y 30°C).

Materiales y Métodos: Se preparó una suspensión de cada una de las levaduras, previamente identificadas como *Metschnikowia* spp. [2], *Hanseniaspora uvarum* [2] o *Starmerella bacillaris* [1], se ajustó a una concentración de 10^6 cel/mL y se agregó 1 mL a placas de Petri que contenían 20 mL de MSU. Después de que el medio solidificó, las placas fueron inoculadas centralmente con un taco de micelio de 6 mm de diámetro tomado de un cultivo previo de *A. alternata* (cepa 5.5, 7.5 o 25.1). Como controles se utilizaron placas de MSU con cada levadura y placas de MSU con cada hongo. Las placas inoculadas fueron colocadas en bolsas de polietileno e incubadas a 15, 25 y 30°C durante 21 días. Al final del periodo de incubación, se tomaron 3 tacos de 6 mm de diámetro de diferentes zonas de la placa y se procedió al protocolo de microextracción de las toxinas, seguido de su detección y cuantificación mediante cromatografía líquida de alta eficiencia con detector UV. El ensayo se realizó por triplicado. Se aplicó un diseño factorial completo con 3 réplicas. Los factores estudiados fueron cepa de levadura [5], cepa de *Alternaria* [3] y temperatura [3] y la respuesta fue la concentración (ng/g) de AOH, AME y ATe.

Resultados: Las dos cepas de *Metschnikowia* spp. evaluadas inhibieron completamente la producción de AOH, AME y ATe de las cepas de *A. alternata* (5.5, 7.5 y 25.1) a las 3 temperaturas ensayadas, mientras que la inhibición producida por las cepas de *S. bacillaris* [1] y *H. uvarum* [2] varió según las condiciones evaluadas y la toxina considerada. En general, el efecto inhibitorio fue mayor a 30°C, seguido de 25°C y finalmente a 15°C, pudiendo en esta última temperatura presentar efecto inhibitorio o estimulante. La cepa *H. uvarum* LP124 no presentó efecto inhibitorio sobre la producción de ATe por la cepa 25.1 a las temperaturas ensayadas.

Conclusiones: Entre las levaduras epífitas de uva para vinificar evaluadas, las cepas de *Metschnikowia* spp. resultaron excelentes inhibidoras de la producción de toxinas de *A. alternata*, por lo que podrían utilizarse como componentes de un biopesticida.

CAMA - Microorganismos de deterioro y biofilms

MI 187

0843 - LACTOBACILOS Y SUS METABOLITOS EN EL CONTROL DE BIOFILMS DE *SALMONELLA* EN CÁSCARA DE HUEVO

MERINO, Lina [1] | TREJO, Fernando[2] | GOLOWCZYC, Marina[2]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE HURLINGHAM [1]; CONICET [2]

Introducción y Objetivos: *Salmonella spp* es un patógeno transmitido por alimentos que, en la industria aviar, puede ser vehiculizado a través de la cáscara del huevo. El control de *Salmonella* es difícil especialmente cuando está formando biofilms, dado que la matriz que se forma, le otorga mayor tolerancia a desinfectantes y persistencia, constituyendo una fuente de contaminación. Las bacterias lácticas mostrado antagonizar diversos patógenos, incluidos aquellos que deterioran los alimentos, y pueden utilizarse como estrategia alternativa para el biocontrol de *Salmonella* en la industria avícola. El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de cepas de *Lactobacillus* aislados de kefir y sus sobrenadantes de inhibir el desarrollo de biofilm de Salmonella sobre cáscara de huevo.

Materiales y Métodos: A partir de cultivos en MRS de *Lb. kefiri* CIDCA 83113, *Lb. kefiri* CIDCA 8321 y *Lb. plantarum* CIDCA 83114 se obtuvieron suspensiones bacterianas y sobrenadantes SN a pH de cosecha $SN\neg_{ác}$ o neutralizados $SN\neg\neg_{neu}$. Se evaluó la capacidad formadora de biofilm de *Salmonella* serovar Enteritidis CIDCA 115 crecida en BHI durante 48 horas a 28°C sobre cáscara de huevo de 1 cm^2, en presencia o no de las suspensiones bacterianas o de SN. Para cuantificar el biofilm formado, se lavó la cáscara de huevo con PBS y *Salmonella* fue liberada por acción mecánica y posterior recuento en agar LB. También se realizaron estudios morfológicos por microscopía electrónica de barrido.

Resultados: El biofilm de *Salmonella* sobre cáscara de huevo presentó valores de 2 x 10^7 UFC/cm^2. Cuando *Salmonella* se co-incubó con *Lb kefiri* CIDCA 8321 alcanzó valores de 1 x 10^6 UFC/cm^2, mientras que durante la pre-incubación con *Lb kefiri* CIDCA 83113 fue de 5 x 10^6 UFC/cm^2. Contrariamente, la pre-incubación con *Lb plantarum* CIDCA 83114 aumentó lo formación de biofilm sobre esta superficie a 1 x 10^8 UFC/cm^2 y la co-incubación con esta cepa y con *Lb kefiri* CIDCA 8321 no tuvo efecto inhibitorio. El $SN_{ác}$ de *Lb. plantarum* CIDCA 83114 (pH=3,8) inhibió el crecimiento de *Salmonella*. Los $SN_{ác}$ de *Lb kefiri* CIDCA 83113 Y 8321 (pH=5,5) y los SN_{neu} de las tres cepas no produjeron inhibición del biofilm. Mediante microscopía electrónica de barrido se observó que *Salmonella* forma sobre cáscara de huevo cúmulos de bacterias embebidas en una densa matriz. Estas estructuras se observaron más pequeñas en la incubación con Lb kefiri y no se observó crecimiento de *Salmonella* en presencia del sobrenadante ácido de *Lb plantarum* CIDCA 83114. Las cepas estudiadas de *Lb kefiri* inhiben la formación de biofilm de *Salmonella* cuando ambas bacterias están

juntas, pero sólo el $SN_{ác}$ *de Lb plantarum* CIDCA 83114 mostró capacidad inhibitoria del biofilm. Esto demuestra la existencia de diferentes mecanismos de inhibición entre las cepas de *Lb.* evaluadas.

Conclusiones: Estos resultados permiten pensar en el desarrollo de una estrategia en lactobacilos para el control del desarrollo de biofilm de *Salmonella* sobre cáscara de huevo.

MI 188

0394 - CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CEPAS MÓVILES Y NO MÓVILES MEDIANTE ANÁLISIS DE IMÁGENES

SÁNCHEZ, Cecilia Isabel[1] | BALBI, Eugenio E.[2] | **MIÑO, Gastón Leonardo** [3]

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ENTRE RÍOS [1]; FACULTAD DE INGENIERÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ENTRE RÍOS [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN BIOINGENIERÍA Y BIOINFORMÁTICA (IBB, CONICET - UNER) [3]

Introducción y Objetivos: Las especies bacterianas *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* son microorganismos patógenos responsables de enfermedades hospitalarias y también de infecciones asociadas al empleo de dispositivos médicos, como catéter y ventiladores, e implantes metálicos. La agresividad y persistencia de estos microorganismos patógenos es atribuida, en parte, a la capacidad para formar biofilms. Esta estructura consiste en un consorcio de microorganismos de una o varias especies que están embebidos en una matriz polimérica. Dicha matriz es de constitución variable y es característica de cada especie bacteriana permitiéndoles a los microorganismos adherirse a una superficie. Las infecciones relacionadas con microorganismos productores de biofilms se caracterizan por la baja respuesta al tratamiento con antibióticos, llegando en casos que de empleo de implantes a tener sustituirlos. El objetivo de este trabajo es caracterizar mediante el análisis de imágenes el desarrollo de colonias en medio semisólido para determinar su capacidad de formación de biofilms utilizando microorganismos aislados de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en comparación con cepas de referencia (ATCC).

Materiales y Métodos: Se trabajó con cuatro microorganismos: dos aislamientos bacterianos identificados como *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, y sus respectivas cepas de referencia *P. aeruginosa* ATCC y *S. aureus* ATCC. Cada uno de los microorganismos se inocularon en caldo LB-Both a 34° C por 24 horas usando agitador orbital a 120 rpm. Luego del periodo de crecimiento se realizó una tinción de Gram para verificar la pureza del cultivo. Se inocularon con 10 µL del cultivo en forma vertical en el centro de una placa de petri conteniendo LB-Both agarizado, cuidando de no mover las placas hasta que se observó que el líquido se absorbió. Las placas fueron incubadas en estufa a 34° C. Durante el periodo de incubación se monitoreo el crecimiento de las colonias mediante registro fotográfico. Las imágenes obtenidas fueron procesadas usando ImageJ. Mediante filtros pasabanda se homogeneizó la iluminación y con mascaras de enfoque se mejoró el contraste. La binarización de la imagen permitió determinar el área de crecimiento bacteriano para poder calcular el radio del círculo ocupado por las bacterias.

Resultados: Se encontró que los microorganismos evaluados no mostraron cambios en la curva de crecimiento durante las primeras horas luego de la inoculación. Durante esta etapa los microorganismos probablemente se estén multiplicando y consumiendo los nutrientes contenidos en el medio semisólido. Sin embargo a partir las 10 hs de experimento los cultivos de *P. aeruginosa* y *S. aureus* evidenciaron patrones de crecimiento diferentes. El halo de crecimiento de *S. aureus* evidenció un leve crecimiento, pero la huella de exploración o crecimiento de *P. aeruginosa* fue de 5 veces más grande pasadas las 30 horas de experimento.

Conclusiones: Mediante un método de análisis de imágenes se monitoreo el crecimiento de cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus* sobre LB-agar que resultó en patrones de crecimiento con morfologías diferentes. Esta diferencia se debe a la capacidad de autopropulsión de las cepas de *P. aeruginosa* respecto de las cepas de *S. aureus*. Esta característica se evidencia por las áreas exploradas en función del tiempo. Mediante esta técnica de evaluación se puede correlacionar la capacidad de movimiento microscópico con una visualización macroscópica.

CAMA - Microbiología industrial, ambiental y biotecnología

MI 189

0022 - ENVASADO DE QUESOS CONTENIDOS EN TRIPA CON DESARROLLO FÚNGICO SUPERFICIAL

MOAVRO, Alfonsina [1] | SANCHEZ DÍAZ, Macarena Rocío[2] | ZAMPATTI, Mariela[3] | CASTELLS, Maria Laura[3] | DELFEDERICO, Lucrecia[4] | WAGNER, Jorge Ricardo[1] | LUDEMANN, Vanesa[4]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONSEJO INTERUNIVERSITARIO NACIONAL [2]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA INDUSTRIAL [3]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES [4]

Introducción y Objetivos: *Penicillium nalgiovense* es un hongo ampliamente comercializado para el crecimiento superficial en embutidos cárnicos secos, aunque no se utiliza intencionalmente en la industria láctea. Nuestras investigaciones demostraron la factibilidad de desarrollar quesos contenidos en tripa con crecimiento superficial de *P. nalgiovense*. Sin embargo, durante el proceso de maduración de los mismos ocurre una importante deshidratación que limita su vida útil. El objetivo de este trabajo es evaluar el impacto que tiene el envasado de estos quesos en la velocidad de deshidratación y en la viabilidad del hongo.

Materiales y Métodos: Se trabajó junto con el INTI-Lácteos, donde se elaboró masa láctea según receta de queso Tybo, que se embutió en tripas sintéticas de 40 mm de calibre. Los quesos obtenidos de 100 g aproximadamente, fueron inoculados por aspersión con una cepa nativa de *P. nalgiovense*. El proceso de maduración se realizó a temperatura y humedad controlada durante 36 días. En una primera etapa los quesos se mantuvieron a 12 °C y 90 % HR durante 14 días, momento en el cual fueron envasados. Para ello, se colocaron sobre bandejas de PVC de 14 cm de largo y luego dentro de sobres de polietileno microperforados (6 poros/cm^2) que se termosellaron en los extremos. Posteriormente la maduración continuó a 5 °C y 90 % HR durante 22 días. También se reservaron muestras sin envasar. Se realizó el seguimiento de pérdida de peso para ambas condiciones. Las características micromorfológicas de *P. nalgiovense* se evaluaron por microscopía electrónica de barrido a los días 7, 21 y 36. También se evaluó el recuento fúngico (UFC/cm^2) y la biomasa fúngica (g/cm^2).

Resultados: Los resultados obtenidos indicaron que al día 14, los quesos presentaron una cobertura blanca homogénea deseable que no se vio modificada luego del envasado. La pérdida de peso en los ejemplares sin envasar mostró una correlación lineal con el tiempo de maduración, obteniendo una velocidad de deshidratación de 0,29 ± 0,01 g/día, duplicando la obtenida en condiciones de envasado (0,12 ± 0,01 g/día). El recuento fúngico alcanzó su máximo al día 14 (10^7 UFC/cm^2) y se mantuvo hasta el final del tiempo de maduración. La misma tendencia se observó al cuantificar la biomasa fúngica superficial demostrando que el envasado no afectó la viabilidad del hongo. Las micrografías permitieron observar que los conidios mantienen su estructura conservada hasta el final del tiempo de maduración, no así las hifas que presentaron cierto grado de deshidratación y colapso hacia el día 36.

Conclusiones: En este trabajo se pudo demostrar que el envasado permitió un intercambio exitoso con la atmósfera ambiente, garantizando la concentración de oxigeno para la viabilidad del hongo, al tiempo que enlenteció la migración de agua, disminuyendo significativamente la velocidad de deshidratación. Esta estrategia resultaría adecuada para el aumento de la vida útil del producto innovador desarrollado.

MI 190

0208 - CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES DURANTE LA FERMENTACIÓN Y MADURACIÓN DE LEVADURAS DE CERVEZA TIPO ALE

MONGI, Simon [1] | DE URRAZA, Patricio Jose[1] | ROMERO, Lílian[2]

CAT. DE MICROBIOLOGÍA GENERAL - DPTO. DE CIENCIAS BIOLOGICAS - FAC. DE CIENCIAS EXACTAS - UNLP [1]; LIDMA. FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS. UNLP [2]

Introducción y Objetivos: La producción de cerveza artesanal en nuestro país ha crecido sostenidamente en los últimos 10 años y con ella la necesidad de obtener un producto con características organolépticas distintivas. Los compuestos orgánicos volátiles (VOCs, por su sigla en inglés) contribuyen en la determinación de dichas características, y su presencia está relacionada en parte con las levaduras utilizadas en el proceso de elaboración. El perfil de VOCs encontrados en el producto se denomina volatiloma, siendo por tanto de interés determinarlo y así detectar diferencias en aquellos metabolitos que contribuyan a la formación del sabor y aroma. Una de las posibles variantes para obtener características distintivas es la utilización de fermentos de levaduras con múltiples cepas (consorcios). El objetivo del presente trabajo fue observar como varia el volatiloma durante la elaboración de cerveza al utilizar diferentes fermentos de levaduras, multicepa o con una única cepa.

Materiales y Métodos: Para determinar el perfil de VOCs, se desarrolló un método de detección de los volátiles presentes en la cerveza mediante el empleo de CG-MS, con un enriquecimiento previo a través de microextracción en fase sólida (SPME, por su sigla en inglés). La elaboración de cerveza se realizó a escala de laboratorio empleando cepas de levaduras asiladas de un fermento líquido comercial. Se elaboró cerveza a partir de fermentos con cepas aisladas o utilizando el consorcio de las mismas. Con el fin de confirmar y determinar las variaciones de los compuestos volátiles producidos por el metabolismo de las levaduras durante el proceso, se evaluaron tres tiempos distintos, i) inicial, ii) al cabo de la fermentación (3 días), iii) a tiempo final, luego de la maduración (15 días).

Resultados: Como resultado de los ensayos, fue posible detectar más de 50 VOCs por muestra, coincidentes con la bibliografía. Dentro de los metabolitos analizados se encontraron familias de VOCs reconocidos por

aportar sabor y aroma a la cerveza, que son productos del metabolismo de la levadura, como esteres de acetato, esteres de etilo y alcoholes superiores. Se encontraron diferencias significativas, entre los volatilomas de cervezas con diferentes fermentos (cepas aisladas y consorcio), dando lugar a múltiples perfiles, detectándose incremento y/o disminución de varios de los compuestos identificados durante la fermentación y/o maduración.

Conclusiones: Los productos obtenidos con los diferentes fermentos pueden ser diferenciados entre sí por los VOCs que generan, es decir, su volatiloma. Esta observación podría correlacionar con productos que posean características organolépticas distintivas a partir del uso de fermentos multicepa. Así mismo, la aplicación de esta técnica para la determinación del perfil de VOCs, sería útil para el seguimiento de la elaboración de cervezas que emplean la reutilización secuencial de levadura en las fermentaciones. Dicha técnica es de gran interés ya que permite un importante ahorro de producción de biomasa y disminuye los desechos durante el proceso de elaboración tipo batch.

MI 191

0630 - PRODUCTION OF XYLANASES BY *CELLULOMONAS FIMI* AND *CELLULOMONAS* B6 AND THEIR APPLICATION IN BIOMASS HYDROLYSIS

BEDÓ, Soma [1] | FEHÉR, Anikó[1] | ONTAÑON, Ornella[2] | SILVINA, Ghio[2] | ROZBACH, Margaréta[1] | JAHOLA, Dóra[1] | PRZEWOZNIAK, Eliza[1] | GARRIDO, Mercedes[2] | CAMPOS, Eleonora[2] | FEHÉR, Csaba[1]

BUDAPEST UNIVERSITY OF TECHNOLOGY AND ECONOMICS, FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY [1]; IABIMO [2]

Introduction and objectives: Lignocellulosic residues are renewable resources to produce value added products and energy. Microbial enzymes with cellulolytic and hemicellulolytic activities have a huge potential to be employed in many bioprocesses using lignocellulosic raw materials. In our study two *Cellulomonas* strains were investigated in terms of their xylanase production by growth on different substrates. The extracellular extracts having the highest xylanase activity were tested in biomass hydrolysis experiments.

Materials and methods: *Cellulomonas fimi* and *Cellulomonas* sp. B6 were grown in 25 mL of minimal medium containing 1% dry matter of different biomasses: pretreated waste paper (PWP), wheat bran (WB), pretreated brewer's spent grain (PBSG) and extruded sweet corn cob (ESCC). As model substrates carboxymethyl cellulose (CMC), beechwood xylan (BX) and Solka floc (SF) were also examined. The supernatants obtained by centrifugation were employed as extracellular enzyme fractions (EE) for xylanase activity determination on beechwood xylan. The process scale up to 200 mL was carried out in baffled Erlenmeyer flasks with the selected biomass. After enzyme fermentation, the enzymatic activity of EE and intracellular extracts (IC, obtained by sonication of bacterial pellets) was evaluated on different model substrates. Concentration of the extracts was accomplished by nanofiltration or lyophilisation. Biomass hydrolysis experiments were carried out on 5% extruded barley straw (EBS). The released sugars were visualized by thin layer chromatography (TLC). Xylose and glucose were quantified using commercial kits.

Results: Xylanase activity of EE was investigated after aerobic fermentation of Cellulomonas B6 and C. fimi on different carbon sources. In general, both strains showed higher extracellular enzymatic activity when cultured on lignocellousic biomasses rather than on model substrates. The preferred carbon source was GWB for C. B6 and PWP for C. fimi. Xylanase activity of EE increased by cultivation in baffled flasks. EE were concentrated 10 times (v/v) by filtration or lyophilisation. After re-dissolution of the lyophilized EE samples, xylanase activities over 30 U/ml were obtained, which was about 10X of the activity of non-concentrated samples. CMCase, beta-xylosidase and beta-glucosidase activities were also detected in EE and IC, but xylanase was the highest activity. EE and IC from C.B6 were tested for enzymatic hydrolysis of EBS. The main hydrolysis products were xylooligosaccharides and xylose. The best ratio of the extracellular and intracellular fractions to achieve high xylose yield was 15U/ml EE plus 1.5U/ml IC.

Conclusions: The best growth substrates for xylanases production by *Cellulomonas* B6 and *C. fimi* were WB and PWP. Lyophilisation was an efficient way to preserve EE and IC and to concentrate the activity. The mixture of concentrated EE and IC hydrolysed the xylan fraction of EBS.

MI 192

0156 - EXPRESIÓN RECOMBINANTE Y CARACTERIZACIÓN DE UNA XILANASA BACTERIANA CON APLICACIÓN POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL CELULÓSICO

PICCINNI, Florencia Elizabeth [1] | ONTAÑON, Ornella Mailén[2] | GHIO, Silvina[2] | MARRERO DÍAZ DE VILLEGAS, Rubén[2] | GARRIDO, Mercedes María[2] | WIRTH, Sonia Alejandra[1] | CAMPOS, Eleonora[2]

INSTITUTO DE BIODIVERSIDAD Y BIOLOGÍA EXPERIMENTAL Y APLICADA. CONICET-FCEN-UBA [1]; INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO) [2]

Introducción y Objetivos: La sacarificación enzimática es el cuello de botella para la producción de etanol celulósico dado el alto costo económico asociado a la producción de enzimas y la variedad de las actividades enzimáticas necesarias para la degradación de lignocelulosa. Los extractos enzimáticos de celulasas que se utilizan actualmente provienen de hongos filamentosos que secretan una variedad de enzimas celulolíticas. La mayoría de las mezclas naturales deben ser complementadas con enzimas adicionales, como beta-glucosidasas y hemicelulasas (xilanasas y beta-xilosidasas). En este contexto, se expresó en forma recombinante una xilanasa potencial, GH10XynC, proveniente de un aislamiento de *Cellulomonas* sp. que había sido detectada en sobrenadante de cultivo en biomasa.

Materiales y Métodos: Por alineación de secuencias y modelado molecular, se predijo una estructura bimodular para GH10XynC, constituida por un dominio catalítico de la familia GH10, característico de endoxilanasas, y un dominio de unión a carbohidratos CBM2. La actividad de la enzima recombinante fue caracterizada sobre xilooligosacáridos (XOS) y sobre xilanos puros de distinto origen, así como sobre xilano contenido en biomasa lignocelulósica. Los productos de hidrólisis se detectaron por reacción de los azúcares reductores con ácido dinitrosalicílico (DNS), HPLC y/o TLC.

Resultados: rGH10Xync presentó actividad sobre xilano en un rango mesófilo de temperatura y pH, con un máximo a pH 6 y 50ºC, y buena estabilidad térmica a 40ºC. El producto principal de hidrólisis de xilano y de XOS fue xilobiosa (X2), seguido de xilotriosa (X3) y xilosa (X1). La enzima mostró una actividad preferencial sobre XOS largos y no fue activa sobre xilobiosa. Estos resultados confirman que rGH10XynC tiene actividad endo-1,4-beta-xilanasa (EC 3.2.1.8). No se detectó actividad de rGH10XynC sobre sustratos celulósicos. rGH10XynC fue activa sobre xilano puro de distinto origen y composición (glucuronoxilano y arabinoxilano); también, sobre xilano contenido en biomasa lignocelulósica compleja (pajas de cebada y de trigo y marlo de maíz dulce pretratados por extrusión y residuo agrícola de caña de azúcar). La actividad de rGH10XynC sobre xilano se mantuvo en el orden de 300-400 U/mg en condiciones óptimas, lo que es comparable con la actividad de xilanasas bacterianas comerciales. Además, la enzima preservó más de un 40% de su actividad a 30ºC y en presencia de etanol (5%), condiciones asociadas a procesos de obtención de etanol celulósico en los que los pasos de sacarificación y de fermentación de glucosa y xilosa (SSCF) están integrados.

Conclusiones: En su conjunto, estos resultados sugieren que rGH10XynC podría ser aplicada en la producción de etanol celulósico por procesos tradicionales o de SSCF, o en otras actividades industriales, tales como el blanqueamiento de papel y la obtención de prebióticos que se adicionan a alimentos de consumo humano.

MI 193

0227 - DIVERSIDAD DE BACTERIAS CULTIVABLES AISLADAS DE LOS GLACIARES BOLÍVAR Y HUMBOLDT EN LOS ANDES VENEZOLANOS Y SU POTENCIAL EN LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO DE TRIGO A BAJA TEMPERATURA

RONDÓN, Johnma | BALCAZAR, Wilvis | GÓMEZ, Wileidy | ROSALES, Rita | RENGIFO, Marcos | BALL, María Mercedes | YARZÁBAL, Luis Andrés

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

Introducción y Objetivos: Los ambientes fríos albergan una amplia diversidad de microorganismos, muchos de ellos se estudian intensamente en todo el mundo por varios motivos: su estilo de vida psicrofílico, su utilidad en los procedimientos de biotecnología y su relación con la búsqueda de vida fuera de nuestro planeta. Sin embargo, debido a las dificultades para acceder y trabajar a altitudes superiores a 5.000 m sobre el nivel del mar, los glaciares tropicales han recibido mucha menos atención que sus contrapartes árticas y antárticas. En el presente trabajo se intentó realizar el aislamiento, caracterización, conservación y exploración del potencial biotecnológico de bacterias presentes en glaciares andinos venezolanos.

Materiales y Métodos: Un total de ciento treinta y cuatro aislados bacterianos puros fueron obtenidos a partir de bloques de hielo derretido y agua subglacial recolectadas en los glaciares Bolívar y Humboldt aproximadamente 4.900 a m.s.n.m. (Parque Nacional de Sierra Nevada, Estado de Mérida, Venezuela). Últimos glaciares venezolanos y próximos a desaparecer, hecho que hace que el estudio y conservación de parte de la diversidad presente en estos ambientes únicos sea urgente.

Resultados: Células bacterianas activas (10^4 -10^6 células/ml) morfológicamente diversas fueron catalogadas como psicrofílicos o psicrotolerantes de acuerdo con su rango de temperatura de crecimiento. Cerca del 30% de los aislados mostraron multirresistencia a antibióticos y más del 60% tolerancia a diferentes tipos de metales pesados, aspectos posiblemente vinculados a la presencia de plásmidos en algunos aislados. Tras el análisis de su secuencia nucleotídica de ADNr 16S se asignaron identidades a 76 aislados puros distribuidos en 6 filos o clases diferentes (α, β, γ Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Flavobacteria). Con respecto al potencial biotecnológico se observó la producción de enzimas extracelulares activas en frío (proteasas y amilasas) y algunos atributos de Bacteria Promotora del Crecimiento Vegetal (BPCV) como la producción de fitohormonas, sideróforos y Cianuro de hidrógeno (HCN), disolución de fosforo inorgánico y la inhibición de

fitopatógenos in vitro e in vivo en microcosmos con semillas inoculadas de trigo (*Triticum aestivum*), destacándose el significativo efecto positivo (ANOVA) de aislados del Género *Pseudomonas* aplicados individualmente y en consorcios sobre la estimulación del crecimiento de raíz y vástago a 15 °C.

Conclusiones: Nuestros resultados apoyan el posible uso de estas cepas para desarrollar biofertilizantes y/o biocontroladores activos en frío para ser utilizados en la agricultura de montaña. Este es el primer informe sobre diversidad de microorganismos cultivables recuperados de muestras de hielo en glaciares andinos tropicales.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

MI 194

1002 - BIOPRESERVACIÓN DE FRUTILLAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS CON CEPAS AUTÓCTONAS DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* DURANTE SU ALMACENAMIENTO A 4 Y 30 ºC

RIVERO, Luciana Del Valle | TORRES SOPORSKY, María de Los Ángeles | SAJUR, Silvia Analía | SAGUIR, Fabiana María

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN

Introducción y Objetivos: Las frutas, consumidas como productos frescos o mínimamente procesados (MP), constituyen una parte fundamental de la nutrición humana. Sin embargo, están sujetas a rápido deterioro por contaminación microbiana. La tendencia actual es la utilización de antimicrobianos naturales, entre ellos, las bacterias lácticas (BL) resultan una alternativa valiosa. En un estudio previo, seleccionamos tres cepas autóctonas de Lactobacillus plantarum por presentar ¨in vitro¨ optimas propiedades antimicrobianas. Objetivo: Evaluar el potencial biopreservativo de cepas seleccionadas N8, EFj18 y EFf29 en frutillas trozadas a 4 y 30 ºC. Al mismo tiempo, determinar los cambios en la ultraestructura del tejido, así como de firmeza y grados Brix.

Materiales y Métodos: Las frutillas lavadas, peladas y cortadas en trozos (1 cm^3) se inocularon (25 g) por inmersión con la suspensión celular de cada cepa obtenida de cultivo de 12 horas (10^9 ufc/ml) o, con una solución de $CaCl_2$ (1,5%, p/v). Transcurrido el tiempo de inoculación (15 minutos, temperatura ambiente) se descartó el exceso, se dejó escurrir y las frutas inoculadas y sus controles (sin inocular) se incubaron a 4 y 30 °C durante 21 días. Los recuentos microbianos se realizaron en medios sólidos MRS (BL), YPG-cloranfenicol (YPG-C, levaduras), Mac Conkey (Enterobacterias) y SSA (Salmonella-Shigella agar)

Resultados: Resultados: En las frutas, sin inocular, la carga microbiana inicial detectada en MRS, YPG-C, Mac Conkey y SSA incrementó 2,0; 3,0; 3,5 y 4,6 unidades log (U log) a 2; 7; 2 y 2 días respectivamente sin detectarse células viables a 14 días a 30 ºC. En esta condición, las cepas inoculadas (107 ufc/g) crecieron alrededor de 2 U log, produciendo completa inactivación de la microbiota autóctona en dos días, excepto en presencia de L. plantarum EFj18 (agar Mac Conkey, 7 días. A 4 °C, la microbiota natural incrementó entre 1 y 4 U log a 2 o 7 días, manteniéndose viable hasta 14 (SSA y Mac Conkey) o 21 (MRS y YPG-C) días. En esta condición, las cepas inoculadas no desarrollaron, pero permanecieron viables, produciendo nuevamente la completa inactivación de la microbiota autóctona a 2 (YPG-C) o 7 días (SSA y Mac Conkey). La microscopia electrónica de transmisión confirmó el efecto antagónico de las BL inoculadas frente a microorganismos deteriorantes y potencialmente patógenos, así como frente a hongos filamentosos. Los tejidos de las matrices inoculadas conservaron su morfología, tamaño y ultraestructura en oposición a la muestra sin tratar, así como sus valores de firmeza y ° Brix especialmente a 4 ºC. El $CaCl_2$, en general, fue menos efectivo comportándose la matriz alimenticia en su presencia similar al control.

Conclusiones: Las cepas autóctonas inoculadas, especialmente N8 y EFf29, presentaron ïn situ¨ un elevado potencial biopreservativo tanto a temperatura abusiva como de refrigeración. Por lo tanto, nos proponemos continuar las investigaciones en este sentido en dicha matriz alimenticia de gran importancia regional.

CAMA - Microbiología industrial, ambiental y biotecnología

MI 195

0199 - OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LEVADURAS HÍBRIDAS INTRAESPECÍFICAS DE *SACCHAROMYCES* MEJORADAS PARA SU USO EN VINIFICACIÓN

SÁNCHEZ, María Laura [1] | CIKLIC, Iván[2] | CHIMENO, Valeria[2] | MERCADO, Laura[2]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO - FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS - CÁTEDRA ENOLOGÍA I [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA - EEA MENDOZA [2]

Introducción y Objetivos: Las levaduras desempeñan un rol fundamental en la fermentación de mostos y la obtención de vinos. Existe interés en el uso de levaduras autóctonas por estar adaptadas a características agroclimáticas regionales, pero además, la selección de cultivos implica diferentes estrategias. Una de ellas es responder adecuadamente a condiciones específicas de vinificación, por ejemplo: resistencia a elevadas concentraciones de azúcar y porcentajes de etanol. Es importante contar con cultivos iniciadores capaces de desarrollarse bajo esas condiciones de estrés. El objetivo de este trabajo fue, a partir de cepas con resistencias específicas diferentes utilizadas como parentales y mediante la generación de híbridos encontrar una descendencia de organismos con características mejoradas.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 10 levaduras parentales identificadas como *Saccharomyces cerevisiae* que presentaron al menos uno de los caracteres: resistencia a alta concentración osmótica y a etanol. Se sometieron a condiciones de esporulación, se sincronizaron los cultivos y se procedió al cruzamiento entre esporas de dos cepas parentales.Se lograron 16 cruzamientos y se pudieron aislar 256 individuos. En forma paralela se llevó a cabo la disección de los ascos y la obtención de cultivos monospóricos provenientes de esporas homocigotas. Cada nuevo cultivo obtenido fue estudiado en sus características de resistencia y comparado con su/s cepa parental. En ambas estrategias, cruzamiento o disección de esporas, se seleccionaron aquellas que demostraron superar a la cepa que le dio origen. Se realizó la caracterización molecular tanto de parentales como de la descendencia mejorada según evaluación fenotípica, para verificar si corresponden a nuevos individuos o se trata de un clon de alguno de los parentales.

Resultados: Se amplificaron regiones tipo minisatélites en genes SED1 y AGA1 seguido de una posterior digestión con las enzimas de restricción *HpaII* y *AluI* respectivamente. También se realizó amplificación de fragmentos interdelta. Se logró amplificar uno o dos fragmentos de los genes *SED1* y *AGA1* pero luego de la restricción no se verificó un polimorfismo adecuado al objetivo; sí se pudieron diferenciar claramente los parentales entre sí mediante la evaluación de fragmentos interdelta, además los cultivos mejorados mostraron perfil molecular diferente con este marcador. Con estos resultados se seleccionaron tres cepas para conducir vinificaciones bajo condiciones de bodega: un derivado monospórico y dos provenientes de cruzamientos.

Conclusiones: La disección de esporas permitió obtener una descendencia homocigota que superó al menos en una característica a su cepa parental. Asimismo el cruzamiento entre esporas es una técnica que permitió generar una nueva cepa que combinó las características deseables de los parentales, y puede ser utilizada en condiciones normales de vinificación.

MI 196

0771 - EVALUACIÓN DE LEVADURAS MEJORADAS DE *SACCHAROMYCES* MEDIANTE MICROVINIFICACIONES.

SÁNCHEZ, María Laura [1] | CICLIK, Iván[2] | RIQUELME, Jesica[1] | PALERO, Santiago[1] | MERCADO, Laura[2]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO - FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS - CÁTEDRA ENOLOGÍA I [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA - EEA MENDOZA [2]

Introducción y Objetivos: La fermentación alcohólica es la etapa clave de la producción de vinos. Contar con cultivos iniciadores capaces de fermentar bajo condiciones de estrés permite solucionar problemas específicos de vinificación. Los organismos genéticamente modificados no son aceptados en países miembros de la O.I.V., por lo cual se planteó el objetivo de mejorar cepas vínicas mediante técnicas microbiológicas sencillas que puedan ser utilizadas como herramientas biotecnológicas para resolver problemas reales en las vinificaciones cotidianas. Se evaluó la generación de cepas híbridas intraespecíficas con el fin de combinar y mejorar rasgos cualitativos de levaduras vínicas *S. cerevisiae*; integrantes de la colección de levaduras vínicas de la FCA UNCUYO.

Materiales y Métodos: Se preseleccionaron levaduras con fenotipos de resistencia a la elevada concentración osmótica y de etanol, las mismas fueron utilizadas como cepas parentales y mediante el cruzamiento entre esporas y/o la disección de ascos se obtuvieron nuevos individuos que mostraron mejoras fenotípicas respecto de sus cepas parentales. Se realizaron micro-vinificaciones en condiciones de escala piloto. Los individuos parentales empleados fueron preseleccionados por presentar resistencia a condiciones osmóticas (cepas O3 y O4) y por resistir elevadas concentraciones de etanol (E4). Las levaduras mejoradas fueron: una cepa obtenida a partir de la disección de esporas de E4 (codificada 15.2T4E1) y dos provenientes de cruzamientos entre esporas: cepa 10.2 (E4xO3) y cepa 11.2 (E4xO4). Se utilizó un inóculo de 2.10^6 cél/ml en fase de crecimiento exponencial de cada cultivo para fermentar 8 kg de uva tinta estrujada y descobajada. La vendimia fue sulfitada con metabisulfito de potasio (5g/qq). Las fermentaciones se condujeron a 20 ± 2 ºC, y diariamente se realizaron bazuqueos y se registró el seguimiento del progreso mediante medición de temperatura y los grados Baumè (Bè). Se realizaron recuentos de levaduras viables: al momento de encubado, cuando se alcanzaron los 7°Bè y luego del descube.

Resultados: Las fermentaciones se dieron por finalizadas a los 14 días cuando se obtuvieron rastros de azúcares reductores, ajustando el dióxido de azufre molecular a 0,5 ppm. Se calculó la velocidad de fermentación de cada levadura y se analizaron azúcares residuales, porcentaje de alcohol y acidez volátil. De acuerdo a los resultados obtenidos, la levadura 15.2T4E1 presentó mayores velocidades y producción de

alcohol que el resto (a=0,05) y con respecto a las variables azúcares reductores y acidez volátil no se observaron diferencias.

Conclusiones: Las levaduras seleccionadas mejoradas mostraron buen desempeño en la etapa fermentativa, resta verificar los datos sensoriales de los vinos una vez estabilizados para completar su evaluación. Las metodologías de mejoramiento propuestas resultan promisorias en el diseño de inóculos innovadores para uso en enología.

MI 197

0162 - EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ELEVACIONES BRUSCAS DE TEMPERATURA DURANTE LAS FERMENTACIONES ALCOHÓLICAS EN MOSTOS NATURALES

VARGAS TRINIDAD, Andrea Susana | LERENA, María Cecilia | ROJO, María Cecilia | CUELLO, Raúl Andrés | LAURA ANALÍA, Mercado | COMBINA, Mariana

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA

Introducción y Objetivos: Las paradas o enlentecimientos de las fermentaciones son un problema recurrente en la industria del vino. Múltiples factores han sido descriptos como desencadenantes de estas fermentaciones problemáticas, pero el efecto de elevaciones bruscas de temperatura ha sido poco estudiado. La elevada temperatura de la uva que ingresa a bodega, sumado al propio calor metabólico generado durante la fermentación y las deficientes capacidades tecnológicas para el control térmico en las bodegas, hacen a este factor determinante. En un estudio previo, se identificaron las condiciones de shock térmico que conducen a enlentecimientos de la fermentación evaluadas en mostos sintéticos en condiciones de laboratorio. El objetivo del presente trabajo fue validar las condiciones térmicas que conducen a una fermentación problemática en mostos naturales vinificados a escala piloto. Adicionalmente, se evaluó el efecto del shock térmico sobre otros grupos microbianos de importancia enológica presentes en el mosto.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 2 cepas de *Saccharomyces cerevisiae* previamente evaluadas: SBB11 y PDM. Las fermentaciones fueron realizadas por triplicado en mostos naturales: Cabernet Sauvignon y Bonarda. La vinificación se realizó con protocolos que reproducen las condiciones industriales a escala piloto. Se aplicaron shocks térmicos a 36ºC y 40ºC durante 16 horas en el día 3 de la FA, posterior a la nutrición de los mostos. La cinética de fermentación fue monitoreada por densidad y la viabilidad de las levaduras mediante siembra en medio WL. Se evaluó el efecto inmediato del calor en las poblaciones autóctonas de bacterias acéticas y lácticas, mediante siembra en los medios CARR y MRS, respectivamente.

Resultados: Se observó una visible alteración de la cinética fermentativa con diferente intensidad dependiendo de la temperatura y la levadura evaluada. En ningún caso se observó detención completa de la fermentación alcohólica, pero si marcados enlentecimientos. Este efecto fue mayor a 40°C, donde fue necesario el doble de tiempo para completar la FA respecto al control, que se asoció a una elevada reducción de la viabilidad de las levaduras (superior al 80% respecto del control). El efecto a 36°C fue casi imperceptible a nivel de la cinética fermentativa; sin embargo, la viabilidad de las levaduras se redujo un 38% respecto del control. Los resultados observados en mostos naturales confirmaron lo previamente observado en mostos sintéticos. La viabilidad de las bacterias lácticas y acéticas se vio afectada por la elevación temporal de la temperatura en diferente magnitud dependiendo del tratamiento y grupo microbiano.

Conclusiones: Los resultados permiten concluir que las elevaciones de temperatura mayores a 36ºC en estadios tempranos de la FA, producen fermentaciones enlentecidas. Estos enlentecimientos están asociados a la reducción de la viabilidad de las levaduras. Las condiciones térmicas que conducen a enlentecimientos de las FA fueron validadas en vinificaciones en mostos naturales a escala piloto.

MI 198

0166 - ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE *SACCHAROMYCES CEREVISEAE* DURANTE FERMENTACIONES ENLENTECIDAS CAUSADAS POR ELEVACIONES BRUSCAS DE TEMPERATURA

LERENA, Maria Cecilia[1] | **VARGAS TRINIDAD, Andrea Susana** [1] | DEL REAL, Javier Alonso[2] | PÉREZ TORRADO, Roberto[2] | MERCADO, Laura Analía[1] | QUEROL, Amparo[2] | COMBINA, Mariana[1]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [1]; INSTITUTO DE AGROQUÍMICA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS IATA CSIC [2]

Introducción y Objetivos: Las levaduras del género Saccharomyces son las responsables de la fermentación alcohólica (FA). Las paradas y enlentecimientos de las FA son un problema recurrente que enfrenta la industria vitivinícola. En un estudio previo, se identificaron las condiciones térmicas que conducen a fermentaciones enlentecidas. Shocks térmicos aplicados 36ºC y 40ºC en estadios tempranos de la FA produjeron

enlentecimientos de la fermentación con diferente intensidad de acuerdo con la temperatura aplicada y la cepa de levadura utilizada. Dos de las cepas de Saccharomyces cerevisiae evaluadas mostraron un comportamiento opuesto al ser sometidas a elevaciones bruscas de temperatura, siendo SBB11 la más sensible y PDM la más resistente. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la respuesta transcriptómica de SBB11 y PDM para comprender las diferentes resistencias fisiológicas a las elevaciones bruscas de temperatura.

Materiales y Métodos: Se realizaron microfermentaciones en mosto sintético. Al tercer día se aumentaron las temperaturas a 36°C y 40°C en ensayos independientes por triplicado. Las células se colectaron 1 hora antes y 40 minutos posteriores al inicio de la elevación térmica para cada temperatura evaluada, así como los controles en los mismos momentos. Las muestras fueron inmediatamente congeladas con nitrógeno líquido. Se extrajo el RNA y se secuenciaron mediante RNAseq (Illumina). Se realizó el análisis estadístico de los datos y se interpretaron mediante términos GO (Gene ontology) y MIPS (funtional clasification).

Resultados: El análisis mostró que el promedio del número de genes expresados significativamente por ambas cepas fue similar al ser sometidas a 36ºC; mientras que a 40ºC, PDM expresó un mayor número de genes en comparación con SBB11. El análisis de los términos GO a 36ºC evidenció que SBB11 regula genes de diferentes vías de respuesta al estrés, mientras que PDM expresó genes de vías metabólicas generales sin activación de la respuesta al estrés. En contraste, a 40ºC, ambas cepas aumentaron la expresión de los genes involucrados en la respuesta al estrés y el plegamiento de proteínas. Sin embargo, PDM mostró una respuesta al estrés más robusta, así como los genes involucrados en la respuesta autofágica. Por otro lado, SBB11 expresó genes implicados en la respiración y proteínas de la membrana mitocondrial.

Conclusiones: Los resultados del análisis transcriptómico permite explicar parcialmente la diferencia en la sensibilidad a las elevaciones bruscas de temperatura de las cepas SBB11 y PDM, por las diferentes categorías de genes que se expresan. Se continúa con el análisis de los datos para identificar los diferentes mecanismos fisiológicos de resistencia al calor para estas cepas.

CAMA - Seguridad alimentaria, calidad, higiene, inocuidad

MI 199

1005 - CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA Y AISLAMIENTO DE LEVADURAS, BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS, POTENCIALMENTE PATÓGENAS Y TERMORESISTENTES DE ENSALADAS DE FRUTA DE ELABORACIÓN ARTESANAL

MORALES, María Rosa | RIVERO, Luciana Del Valle | RUÍZ, Gonzalo | SOSA, Oscar | SAGUIR, Fabiana María

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN

Introducción y Objetivos: La demanda de frutas mínimamente procesadas (MP) constituye actualmente uno de los segmentos de mayor crecimiento en la industria alimentaria. La seguridad microbiológica de estos alimentos resulta difícil de controlar. La aplicación de bacterias ácido lácticas (BAL) autóctonas con actividad antagónica puede ser una herramienta útil para limitar el desarrollo de microorganismos patógenos e indeseables, tales como *Salmonella* ssp (SAL) y levaduras. El objetivo de este trabajo fue aislar y cuantificar la carga microbiana de ensalada de fruta de elaboración local (EF), incluyendo BAL, SAL, levaduras y bacterias termorresistentes, a fin de establecer su potencial riesgo sanitario y de deterioro así como de microorganismos beneficiosos

Materiales y Métodos: Los aislamientos y el recuento total se realizó a partir de las frutas y el jugo de EF, sin tratamiento previo y luego de preenriquecimiento a 37 °C en agua peptonada (AP). El enriquecimiento selectivo para el aislamiento especialmente de SAL se realizó en caldo Rappaport-Vassiliadis a 43ºC. El recuento de mesófilos totales se llevó a cabo en PCA. Los medios MRS agar suplementado con cicloheximida (MRSCx), Mac Conkey agar (MCA), SSA y YMPG agar suplementado con cloranfenicol (YMPG+C); se usaron para el recuento de BAL, enterobacterias, Salmonella/Shigella ssp, y levaduras; respectivamente. Por otro lado, alícuotas de con y sin preenriquecimiento se trataron a 60 ºC durante 30 min y se sembraron en los citados medios.

Resultados: La porción sólida de la EF sin preenriquecimiento mostró recuentos positivos en todos los medios ensayados, detectándose los mayores valores en YMPG+C y PCA, con 4,51 y 3,38 log ufc/g, respectivamente. Sin embargo, en muestras preenriquecidas los recuentos alcanzaron valores máximos de 8,54 y 9,53 log ufc/g en SSA y MRSCx; respectivamente. El enriquecimiento selectivo de SAL permitió recuperar 9,8 log ufc/g en SSA. En el jugo, los recuentos fueron similares a los observados en las frutas. Luego del tratamiento térmico de las muestras sin preenriquecimiento, se observó recuento positivo (1,17 log ufc/ml) solo en PCA; mientras que en las muestras preenriquecidas en todos los medios, con valores comprendidos entre 5,34 y 3,23 log ufc/ml; excepto YMPG+C. Los resultados indicaron que en EF artesanal la microbiota estuvo constituida predominantemente por levaduras y bacterias, tanto BAL como Gram negativas-catalasa positiva. Luego del preenriquecimiento y enriquecimiento selectivo, se recuperaron numerosos aislamientos presuntivos de Salmonella spp, lo cual indica el potencial riesgo para la salud del consumidor.

Conclusiones: El tratamiento térmico permitió demostrar la presencia de bacterias termorresistentes potencialmente esporulantes. Por lo tanto, resulta imprescindible la caracterización de las BAL presentes en el medio natural para el control de bacterias y levaduras potencialmente detrimentales y/o patógenas presentes en la EF.

MI 200

0253 - VIRUS TRANSMITIDOS POR ALIMENTOS: PRIMER REPORTE EN OSTRAS (CRASSOSTREA GIGAS), PROVINCIA DE BUENOS AIRES.

MOZGOVOJ, Marina [1] | BARBIERI, Elena[2] | GONZALEZ, Cintia[3] | VICTORIA MONTERO, Matías[4] | LOPEZ TORT, Fernando[5] | CAP, Mariana[6] | BARÓN, Pedro[7]| PARREÑO, Viviana[8]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA), INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CONICET [1]; LABORATORIO DE OCEANOGRAFÍA BIOLÓGICA LOBIO CESIMAR-CCT CONICET-CENPAT [2]; INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTO, CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE AGROINDUSTRIA, INTA [3]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR, CENUR LITORAL NORTE [4]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR, CENUR LITORAL NORTE [5]; INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE AGROINDUSTRIA, INTA [6]; LABORATORIO DE OCEANOGRAFÍA BIOLÓGICA LOBIO CESIMAR-CCT CONICET-CENPAT [7]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA); INSTITUTO DE VIROLOGIA E INCUINTA, CONICET [8]

Introducción y Objetivos: Los norovirus (NoV), junto con los rotavirus (RV) humanos, son los principales agentes virales causantes de brotes de gastroenteritis en todo el mundo. Los moluscos bivalvos, debido a su capacidad de concentrar partículas virales en su sistema digestivo por filtración de grandes volúmenes de agua, pueden estar contaminados con estos patógenos. En la costa de nuestro país pueden distinguirse mejillones (*Mitylus edulis*), vieiras (*Aequipecten tehuelchus*) y ostras (*Crassostrea gigas*), como los más relevantes para la actividad pesquera regional y, potencialmente, la comercialización en el mercado internacional. Como consecuencia de brotes causados por el consumo de alimentos contaminados con virus, el mercado internacional ha incrementado las exigencias sanitarias en la calidad de los productos que se exportan. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de virus en ostras (*Crassostrea gigas*) del sur de la provincia de Buenos Aires.

Materiales y Métodos: Para ello, se obtuvieron ostras (n=88) a partir de un relevamiento realizado en el año 2015 de la zona sur de la costa bonaerense. Se recolectaron ejemplares de las zonas noreste y sureste de Isla Gama, ubicada frente a la localidad de Bahía San Blas, por fuera de las zonas de restricción de SENASA. El procesamiento de las muestras se realizó según norma ISO/TS 15216-2:2013, con algunas modificaciones. La muestra se definió como un pool de ostras de 2g. La detección de los genomas virales se realizó mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real.

Resultados: Se evidenció la presencia de genoma de NoV perteneciente al genogrupo II (GII) y RVA, en dos pooles. La caracterización de la cepa de NoV se realizó mediante RT-nested PCR, la cual permitió amplificar un fragmento comprendido entre ORF1 y ORF2 de 390pb. Estudios filogenéticos demostraron que el genotipo encontrado correspondía a la variante de NoV GII.4, Sidney 2012. Con respecto al RVA, se realizaron 4 pasajes ciegos en células MA104. Mediante RT-PCR en tiempo real, se mostró una disminución en el valor del CT (ciclo umbral) correspondiente al cuarto pasaje de RVA (CT=36), respecto del valor del CT correspondiente al genoma del virus encontrado inicialmente en el pool de ostras (CT=25). La presencia de partículas virales infecciosas se evidenció mediante inmunofluorescencia directa, usando un nanoanticuerpo VHH específico contra la proteína VP6 de RVA marcado con ALEXA-fluor 488. Este ensayo demostró la viabilidad del RVA encontrado.

Conclusiones: En nuestro conocimiento, este trabajo constituye el primer reporte de detección de NoV y RVA en Crassostrea gigas de nuestro país, y representa la primera detección de virus en alimentos en Argentina. Ante un fortalecimiento en los últimos años de la actividad pesquera de moluscos bivalvos en nuestro país, los estudios realizados representan información epidemiológica de relevancia para la implementación de estrategias de control sanitario que permitan la certificación de inocuidad para la exportación segura de estos frutos de mar de alto valor económico.

Presentación de pósters CAMA 2
Jueves 26 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

CAMA - Seguridad alimentaria, calidad, higiene, inocuidad

JU 166

0285 - *SHIGELLA* SPP. EN ENSALADAS PREPARADAS, LISTAS PARA CONSUMIR

ANSELMO, Ricardo José | OJEDA, Pablo Alejandro | **BARRIOS, Hebe Alicia**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

Introducción y Objetivos: Durante las últimas décadas, diferentes investigaciones científicas han demostrado que una dieta rica en frutas y hortalizas ofrece una protección contra muchas enfermedades. Esto, junto con el poco tiempo con que cuenta gran parte de la población para cocinar en días laborales sus alimentos, ha incrementado el consumo de ensaladas preparadas, listas para consumir, procedentes de diferentes lugares de expendio. Sin embargo, se ha informado de una serie de casos en los cuales los productos frescos, principalmente las frutas, verduras y hortalizas, constituyen uno de los principales vehículos de transmisión de enfermedades producidas por diferentes microorganismos. La lechuga, repollo, apio y otros vegetales que generalmente se consumen crudos han sido asociados con brotes epidémicos, endémicos y esporádicos de diarrea tanto en países desarrollados como en desarrollo. La mayoría de casos de shigelosis son causados por la ingestión de alimentos o aguas con contaminación de origen fecal. En el caso de alimentos el factor predominante de contaminación es el manipulador con higiene personal deficiente. A partir de portadores infectados, este patógeno se disemina a través de variadas rutas que incluyen alimentos, manos, moscas y fómites. Un número de alimentos crudos o no cocidos han sido vinculados a brotes de shigelosis incluyendo lechuga, perejil, ensalada de legumbres, bocadillos fríos, ensalada de papas, ensalada de tofu, ensalada de huevo, hamburguesas, tomates y ostras. El objetivo de este estudio fue investigar la presencia de *Shigella* spp. en ensaladas de vegetales y verificar la resistencia antibiótica de las cepas aisladas a partir de estos alimentos.

Materiales y Métodos: Un total de ciento sesenta muestras de vegetales en ensaladas preparadas, listas para consumir fueron obtenidas de cinco lugares de expendio de la ciudad de Luján, provincia de Buenos Aires, Argentina durante los meses de enero 2017 a diciembre 2018. La totalidad de las muestras analizadas se encontraban en bandejas plásticas descartables cubiertas con un film plástico termosellable y se tuvo la precaución que arriben al laboratorio en sus envases inalterados. Se realizó aislamiento por agotamiento en agar MacConkey, agar xilosa-lisina-desoxicolato y agar entérico de Hektoen a partir de una suspensión de 25 g de muestra en 225 mL de agua de peptona tamponada antes y despues de incubar a 35°C por 24 horas. Cinco colonias características de cada placa, luego de su reaislamiento en agar MacConkey, se sometieron a identificación bioquímica, tipificación serológica y determinación del perfil de resistencia antibiótica por métodos microbiológicos estándares.

Resultados: Del total de las muestras analizadas, *Shigella* fue aislada de 13 muestras (8,12%) por análisis bioquímico y tipificación serológica. De los 13 aislamientos obtenidos, uno por muestra, se determinó que siete (53,85%) fueron *Shigella flexneri* serotipo 2, cuatro (30,77%) *Shigella flexneri* serotipo 1 y dos (15,38%) *Shigella boydii* serotipo 2 mediante la tipificación serológica. Solo cuatro *Shigella flexneri* serotipo 2 manifestaron una multirresistencia a ampicilina, cloranfenicol y trimetoprima-sulfametoxazol, mientras que el resto manifestó resistencia a un solo antibiótico.

Conclusiones: De los resultados obtenidos puede concluirse que las ensaladas preparadas, listas para consumir, constituyen un elevado riesgo de contraer shigelosis debido a que este tipo de alimento es consumido sin tratamiento previo. Asimismo, deberían cumplirse dos factores importantes que son lavado adecuado y acidificación con jugo de limón o vinagre a fin de minimizar los riesgos de infección por esta bacteria entérica patógena.

JU 168

0103 - EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE INTERNALIZACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* NO PATÓGENA EN PLANTAS DE LECHUGA

ORIANI, Alejandra Soledad[1] | MARZOCCA, María Alejandra[1] | GENTILI, Alejandro Raúl[1] | LUSTO, Jorge[2] | **BALDINI, Monica** [1]

DTO. DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR. BAHÍA BLANCA [1]; DTO. DE AGRONOMÍA, UNS. MUNICIPALIDAD DE BAHÍA BLANCA [2]

Introducción y Objetivos: La lechuga es una de las verduras de hoja verde más consumidas. Debido a que se consume cruda ha pasado a ser una fuente importante de enfermedades transmitidas por alimentos. Se han documentado brotes relacionados con la ingesta de productos vegetales frescos, como espinaca, lechuga, tomate y germinados, contaminados con *E. coli* O157:H7 y *Salmonella enterica* serovar Newport. La contaminación se puede dar a lo largo de la cadena de producción; se reportan como principales fuentes el agua de riego de mala calidad, abonos a base de estiércol no tratado adecuadamente, el empleo de semillas contaminadas y diferentes vectores como animales, insectos y seres humanos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de *Escherichia coli* para ingresar y sobrevivir en plantas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* variedad headbutter).

Materiales y Métodos: Se estableció un cultivo de lechuga en condiciones de invernadero. La cepa utilizada se aisló de trabajos anteriores realizados en el agua de riego empleada por los productores del cinturón hortícola de Bahía Blanca, dando así continuidad a un estudio previo. Se usó *E.coli* como modelo de comportamiento de bacterias no patógenas de origen intestinal. Los plantines se obtuvieron a partir de semillas. La tierra utilizada se esterilizó en autoclave (127ºC durante 20 minutos en tres días sucesivos). Previo a los ensayos se realizaron análisis de las semillas y del sustrato, para descartar la presencia de organismos coliformes termotolerantes y de *E. coli*. Las plántulas se dejaron crecer durante 15 días. A partir de ese momento las macetas se asignaron aleatoriamente a dos grupos: 6 al control y 6 al experimental. Estas últimas se regaron con una suspensión de *E.coli* (10^5 UFC/ mL) dos veces por semana evitando salpicar a la planta. El control se regó con igual frecuencia y volumen de agua potable. Al cabo de 30 días y habiendo pasado 4 desde la última inoculación, se cosecharon las hojas centrales, se lavaron tres veces con agua estéril a fin de eliminar la posible contaminación superficial y se realizó la búsqueda de *E. coli* aplicando la metodología propuesta por BAM, FDA (2002). A 10 g de tejido se le adicionaron 90 mL de agua buffereada peptonada al 0,1% y se homogeneizó. Utilizando 3 diluciones consecutivas, se inoculó 1 mL de cada una en caldo Lauril Tryptosa para una combinación 333 de NMP. Se incubó a 35°C ± 0,5°C. Los tubos positivos (gas) se transfirieron a Caldo EC y se incubaron 24 ± 2 h a 44,5°C. Los positivos se confirmaron en Agar EMB y con pruebas bioquímicas. Dichos análisis se realizaron en las cepas antes de la inoculación y a las colonias recuperadas durante el experimento. También se evaluó la presencia de la bacteria en 10 g de sustrato.

Resultados: Los resultados del NMP del grupo control fueron <3 coliformes fecales/g, mientras que en el grupo experimental variaron entre <3/g (n:4) y 4/g (n:2) con la posterior confirmación de *E.coli*. En el sustrato se corroboró la presencia de la bacteria. Esto pone en duda la capacidad de la cepa usada de *E.coli* para ingresar o permanecer en el interior de la planta.

Conclusiones: Numerosos trabajos demuestran la internalización de microorganismos patógenos (*E. coli* enterohemorràgicas, enteroagregativas, *Salmonella*spp.,etc.) en productos vegetales. Se podría suponer que las mismas estrategias de virulencia involucradas en la adhesión, invasión y colonización de células epiteliales animales les servirían para las vegetales. La cepa usada, al carecer de estos factores, vería afectada su capacidad de invadir.

JU 169

0157 - VIGILANCIA DE VIRUS ENTÉRICOS EN FRUTAS FINAS PRODUCIDAS EN ARGENTINA

OTEIZA, Juan Martin | SOTO, Silvina | JAUREGUIBERRY, Maria Virginia | BARRIL, Patricia

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA TÉCNICA A LA INDUSTRIA (CIATI A.C.)

Introducción y Objetivos: La contaminación de los alimentos con virus entéricos es una de las principales causas de enfermedades de transmisión alimentaria. En las últimas décadas, las frutas finas congeladas han sido implicadas como el vehículo probable de infección en múltiples brotes del virus de la hepatitis A (HAV) y norovirus (NoV). Estos productos alimenticios a menudo reciben un procesamiento mínimo o nulo y están expuestos a la contaminación por virus en cada etapa de la producción. En un mundo crecientemente globalizado, los productos frescos tienen una amplia distribución y pueden dar origen a la propagación de enfermedades en puntos distantes del planeta. Según el Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos (RASFF) de la Unión Europea, durante el año 2018 se recibieron un total de 55 notificaciones vinculadas con la presencia tanto de NoV (51) como de HAV [4] en alimentos. Del total, 8 fueron vinculadas a la presencia de NoV en frutas finas mientras que 2 a HAV. Con el objeto de conocer la calidad virológica de las frutas finas que se producen en Argentina, se evaluó la presencia de NoV genogrupos GI y GII, HAV, rotavirus (RV) y enterovirus (EV) en 90 muestras de frutillas, arándanos, moras, grosellas, cassís, y corintos (frescas y congeladas), producidas en las provincias de Neuquén, Santa Fe, Buenos Aires, Tucumán y Entre Ríos.

Materiales y Métodos: Las partículas virales se eluyeron y concentraron mediante precipitación con polietilenglicol siguiendo los lineamientos del método de referencia ISO/TS 15216. Se realizó la extracción de los ácidos nucleicos virales con el kit comercial Direct-zol (Zymo-Research) y la detección y caracterización viral se llevó a cabo mediante RT-PCR en tiempo real con sondas TaqMan utilizando kits comerciales provistos por la empresa Generon S.p.A. Las secuencias de los primers y sondas para NoV y HAV se basan en la norma ISO/TS 15216, mientras que para RV se utilizaron primers y sondas descriptos por Zeng et al. (2008) y para EV humano los descriptos por Read y Kurtz (1999).

Resultados: Del total de muestras analizadas, sólo se detectó contaminación viral en 1 (1.1%) muestra de frambuesa, en la cual se identificó NoV genogrupo GII. No se detectó presencia de NoV GI, HAV, RV ni EV en las muestras analizadas, como así tampoco detección viral en las otras variedades de frutas finas ensayadas (frutillas, arándanos, moras, grosellas, cassís, y corintos).

Conclusiones: Estos resultados preliminares son los primeros en el país en relación a la detección de virus entéricos en frutas finas y revelan que los niveles de prevalencia de virus en estas matrices alimenticias son bajos. La información obtenida es útil para obtener datos de referencia que sirvan de base para una evaluación de riesgos de transmisión de virus patógenos asociados al consumo de frutas finas.

JU 170

0407 - ROTAVIRUS EN AGUAS RECREACIONALES DEL NOROESTE ARGENTINO

OTEIZA, Juan [1] | CHÁVEZ DÍAZ, Lucía[2] | PREZ, Verónica[3] | GUTIÉRREZ- CACCIABUE, Dolores[4] | RAJAL, Verónica[4] | BARRIL, Patricia[1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA TÉCNICA A LA INDUSTRIA (CIATI A.C.) [1]; INIQUI-CONICET. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA [2]; INSTITUTO DE VIROLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. [3]; INIQUI-CONICET/FACULTAD INGENIERÍA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA [4]

Introducción y Objetivos: Los ambientes acuáticos superficiales, como ríos y embalses, son utilizados con fines recreativos para actividades tanto de contacto primario como secundario. Sin embargo, la calidad microbiológica de estas aguas puede verse afectada por diversas fuentes de contaminación puntuales y difusas, representando un potencial riesgo para la población expuesta. Desde el punto de vista de la salud pública, los virus entéricos son el grupo de organismos patógenos más críticos que pueden encontrarse en matrices acuosas, debido a que su dosis mínima infecciosa es muy baja, los individuos infectados los excretan en altas concentraciones en las heces y son muy resistentes a los sistemas de desinfección. Entre los virus entéricos de transmisión hídrica, se encuentra rotavirus grupo A (RVA), principal agente etiológico de diarrea infantil en el mundo. El objetivo de este estudio fue analizar la ocurrencia de RVA en dos cuerpos de aguas de uso recreativo de la provincia de Salta (Noroeste Argentino).

Materiales y Métodos: Durante el período que va de Diciembre de 2015 a Septiembre de 2016 se realizaron cinco campañas de muestreo en el Río Wierna y seis en el Embalse General Belgrano. En cada muestreo se tomaron tres muestras de 20 litros de agua de las zonas seleccionadas, obteniéndose un total de 15 en el Río Wierna y 18 en el Embalse. Las partículas virales fueron concentradas por ultrafiltración empleando un módulo descartable de fibra hueca y utilizando el bacteriófago PP7 como virus control de proceso. Los ácidos nucleicos se extrajeron con el kit comercial Direct-zol RNA Miniprep (Zymo Research, USA). La presencia de RVA se analizó mediante RT-real time PCR con sonda Taqman, y en las muestras positivas se caracterizaron los genotipos G (gen VP7) por RT-heminested PCR.

Resultados: Se detectó presencia de RVA en el 6,7% (1/15) de las muestras de aguas colectadas en el Río Wierna y en el 22,2% (4/18) de las aguas del Embalse General Belgrano. Los genotipos identificados fueron G3, en los dos ambientes acuáticos, y G4, sólo en el embalse; ambos de frecuente circulación en la población humana.

Conclusiones: La detección de RVA en aguas recreacionales del Noroeste Argentino sugiere la necesidad de incorporar estrategias efectivas para el control y prevención de los riesgos potenciales de infección viral por exposición a las aguas superficiales contaminadas, como así también para la preservación del ambiente.

CAMA - Seguridad alimentaria, calidad, higiene, inocuidad

JU 171

0048 - DETECCIÓN PRECOZ DE HONGOS PATÓGENOS EN EL DESARROLLO DE FRUTA DE PERA D'ANJOU EN NORPATAGONIA COMO HERRAMIENTA DE PREDICCIÓN DE SU CALIDAD.

BASSO, Carla | SOSA, Maria Cristina

FITOPATOLOGÍA, IBAC, FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, CITAAC CONICET-UNCO.

Introducción y Objetivos: El inóculo de diferentes especies fúngicas existente en el monte frutal genera infecciones latentes en el fruto en crecimiento, que se manifiestan y afectan su calidad durante la conservación. El objetivo del trabajo fue detectar infecciones latentes y caracterizar la microflora fúngica en el desarrollo del fruto de pera d´Anjou, susceptible a podredumbres calicinales y pedunculares, desde la floración hasta la salida de conservación.

Materiales y Métodos: En 2018/2019, se establecieron 5 momentos fenológicos a campo: plena flor (PF); caída de pétalos (CP); 30, 60 y 120 días después de plena flor (DDPF), y 4 en poscosecha: 60, 90 y 120 días después de cosecha (DDC) y madurez comercial (7 d 20ºC). A campo, se extrajeron 5 ramilletes florales (PF y CP) o 5 frutos (30 a 120 DDPF) de 10 plantas (n=50). A madurez comercial se cosechó la fruta de 5 árboles, se embaló y conservó a -1/0ºC y 95-99% HR. La detección de infecciones latentes en cada momento, se realizó por disección, desinfección y siembra en agar papa dextrosa (APD) a 22°C. Una flor por ramillete se disectó en pétalos, estambres, sépalos; el fruto inmaduro en restos florales, base calicinal y pedúnculo y los frutos almacenados en pedúnculos (extremo, medio y base), y cáliz (restos florales y base). A 72 h de incubación, se leyeron las colonias fúngicas, y estableció el porcentaje de incidencia (%I).

Resultados: En PF, *Botrytis cinerea* presentó el mayor %I=34 en sépalos, seguido por *Alternaria* sp. con 16 %I. *Diplodia* sp., *Cladosporium* sp. y *Penicilliumsp.* registraron bajos porcentajes. A CP, se destacó *Alternaria* sp. (31.1 %I), y *B. cinerea* (26.6 %I) en restos florales; mientras *Cladosporium* sp. tuvo 2 %I. Durante el crecimiento del fruto a 30, 60, y 120 DDPF, se destacó *Alternaria* sp. en restos florales (45, 100, 74 %I, respectivamente) y base calicinal del fruto (23.9, 70 y 50 %I, respectivamente). *B. cinerea* a 30 DDPF tuvo 17.4 %I en restos florales y 8.7 %I en base calicinal; a 60 DDPF, 22.5 %I en ambos; y a 120 DDPF, 14-16 %I en ambos y 16 %I en pedúnculo. *Penicillium* sp. tuvo bajos porcentajes al igual que *Diplodia* sp. y *Cladosporium* sp. Durante la conservación, a 60 DDC, *Alternaria* sp tuvo el mayor %I= 53,3 en pedúnculo; mientras *B. cinerea*, *Diplodia* sp., *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. tuvieron %I= 6,7 en base de pedúnculo y sépalos. A 90 DDC el mayor %I fue de *Alternaria* sp. y *Cladosporium* sp. (40%) en sépalos, seguido por *B. cinerea* (30%) y *Penicillium* sp. (10%) en pedúnculo. A 120 DDC, el %I mayor fue de *Alternaria* sp. en sépalos (70%). *B. cinerea* tuvo 20 %I en base de pedúnculo y *Diplodia*sp. un 10 %I en sépalos.

Conclusiones: Varias especies de hongos fitopatógenos se detectaron temprano, destacándose *Alternaria* sp. y *B. cinerea* en todos los momentos, notándose el avance de la infección desde los restos florales hacia el fruto. La detección del momento de mayor incidencia de estos hongos patógenos es una herramienta para predecir la calidad de la fruta en conservación, y de este modo asegurar su inocuidad para consumo.

JU 172

0088 - VALIDACIÓN DE IRRADIACIÓN PARA REDUCIR LA PRESENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN CARNE PICADA FRESCA

CAP, Mariana [1] | LIRES, Carla[2] | CINGOLANI, Maria Celeste[2] | SOTERAS, Trinidad[1] | GENTILUOMO, Jimena[3] | PRINCIPE, Francisco[4] | VAUDAGNA, Sergio[5]

INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTO, CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE AGROINDUSTRIA, INTA [1]; COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA, CENTRO ATÓMICO EZEIZA, (CNEA) [2]; STAMBOULIAN, LABORATORIO DE ALIMENTOS [3]; ASESOR COOPERATIVA OBRERA LTD. [4]; INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CIA-INTA. CONICET [5]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es el agente causal de diarreas con o sin sangre y, en los casos más severos, Síndrome Urémico Hemolítico. La carne picada ha sido descripta como uno de los principales vehículos de esa bacteria y, desde entonces, se han realizado numerosos estudios que buscan reducir la presencia de la misma en matrices cárnicas.El objetivo del presente proyecto fue evaluar y validar el proceso de irradiación como intervención para reducir cepas autóctonas de STEC inoculadas en carne picada fresca. Se realizaron 2 ensayos.

Materiales y Métodos: En el primer ensayo se estableció la dosis de irradiación mínima capaz de reducir 5 ciclos logarítmicos en la población de STEC y se comprobó que no alterara la calidad sensorial de la carne picada fresca aun considerando la posible distribución de la dosis recibida por el producto en condiciones comerciales (2,5 veces mayor que la dosis mínima). En el segundo, se validó la dosis de irradiación con muestras de carne picada inoculadas con una baja concentración de STEC. La muestra se definió como una bolsa con 25 g de carne picada fresca. Las cepas utilizadas correspondieron a aislamientos autóctonos de STEC O157 y no O157. Las cepas se inocularon en forma individual y en forma conjunta (coctel). La irradiación de las muestras se realizó en el Centro Atómico Ezeiza de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA) en la Planta de Irradiación Gamma, cuya fuente es Cobalto 60 (820 kCi).

Resultados: Para definir la dosis mínima, las muestras se inocularon con una alta concentración de bacterias y se expusieron a 5 dosis de irradiación (0,2 – 0,4 - 0,6 -0,8 y 1,5 kGy). Los recuentos bacterianos obtenidos para cada dosis, más los recuentos obtenidos de la muestra control (sin irradiar) se utilizaron para construir curvas de inactivación y para estimar el valor D10 para cada cepa y para el coctel. Los D10 se encontraron dentro del rango de 0,15 a 0,20 kGy por lo que se estimó que una dosis de 1 kGy sería suficiente para reducir 5 log UFC/g de STEC O157 y no O157 en carne picada fresca. Luego, se llevó a cabo un ensayo hedónico con hamburguesas elaboradas a partir de muestras control y tratadas con 2.5 kGy en donde se comprobó que la aceptabilidad (tanto general como por apariencia, textura y sabor) no presentó diferencias significativas entre muestras irradiadas y no irradiadas. A su vez, para validar la dosis, las muestras fueron inoculadas con una baja concentración de cepas STEC y expuestas al tratamiento de irradiación con 1 kGy. Para el análisis microbiológico las muestras fueron enriquecidas por 24 horas y analizadas por PCR en tiempo real para los genes *stx* y *eae*. La efectividad se determinó en función del porcentaje de muestras positivas para dichos genes. Los resultados evidenciaron que sólo un 0,04% de las muestras resultaron positivas para los genes analizados luego del tratamiento.

Conclusiones: Este trabajo demuestra la enorme potencialidad de la irradiación como estrategia para reducir STEC en carne picada.

JU 173

0399 - EFECTO DE DIFERENTES TIEMPOS DE CONTACTO CON AGUA ELECTROACTIVADA PARA REDUCIR CONTAMINANTES BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS EN LECHUGA

CAP, Mariana [1] | ROJAS, Dante[1] | FERNÁNDEZ, Mariano[1] | FULCO, Micaela[2] | CRISTOS, Diego[1] | MOZGOVOJ, Marina[3]

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA), INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS [1]; UNIVERSIDAD DE MORÓN [2]; INTA-CONICET-UM [3]

Introducción y Objetivos: En la Argentina, el consumo per cápita de lechuga es de 19 kilos por año. Es considerada como la verdura de hoja más importante dentro del grupo de hortalizas. Sin embargo, el consumo de lechuga fresca puede representar un riesgo para los consumidores en términos de inocuidad, ya que puede vehiculizar contaminantes químicos y/o biológicos y desencadenar enfermedades transmitidas por alimentos. En los últimos años, el agua electroactivada (AE) ha sido reconocida como agente sanitizante. Sus principales ventajas son: desinfección efectiva, fácil de usar, relativamente económica y ambientalmente amigable. En el presente estudio se evaluó el efecto de diferentes tiempos de contacto con agua electroactivada para reducir contaminantes biológicos y químicos en lechuga.

Materiales y Métodos: Se realizaron dos ensayos. En el primero, muestras de 25 g de lechuga fueron inoculados con un coctel de cepas autóctonas de *Salmonella spp* con un volumen suficiente para alcanzar una concentración final de 7 log UFC/g. En el segundo, muestras de 25 g de lechuga fueron inoculadas con Imidacloprid (un insecticida de la familia neonicotinoide) con un volumen suficiente para alcanzar una concentración final de 0,7 mg/kg. El tratamiento con AE se aplicó sumergiendo cada muestra en 100 ml de solución con una concentración de 50 ppm de cloro libre. Los tiempos de contacto evaluados fueron: 15, 30 y 45 segundos. El recuento de *Salmonella spp* pos tratamiento se estimó por recuento en placa de xilosa lisina desoxicolato. La cuantificación de Imidacloprid se realizó mediante una técnica de extracción de residuos seguida por espectrometría de masas y por una separación analítica por cromatografía líquida. Como muestras control se utilizaron muestras inoculadas y tratadas con agua de canilla por 15, 30 y 45 segundos. Cada ensayo se realizó tres veces con dos réplicas por ensayo. Para el análisis estadístico se aplicó ANOVA de una vía y Tukey como test de comparación de medias.

Resultados: Tras el análisis de los resultados, se observó que el tratamiento más efectivo para reducir, tanto *Salmonella spp* como Imidacloprid, fue el de 45 segundos. En este tiempo, la reducción logarítmica en el recuento de *Salmonella spp* fue de 4 log UFC/g y la reducción de Imidacloprid fue de un 48%, valores estadísticamente diferentes de los otros tiempos analizados. Entre los tratamientos de 15 y 30 segundos no se observaron diferencias significativas. La reducción logarítmica en el recuento de *Salmonella spp* fue de 3 log UFC/g y la reducción de Imidacloprid fue de un 29%. Con respecto al efecto sobre *Salmonella spp*, todos los tratamientos con AE se diferenciaron de las muestras control. Con respecto al efecto sobre Imidacloprid sólo el tratamiento de 45 segundos se diferenció de las muestras control.

Conclusiones: La utilización del AE por 45 segundos resultó una alternativa efectiva para reducir *Salmonella spp* e Imidacloprid en lechuga y mejorar la inocuidad del producto.

JU 174

0235 - EFECTO DE LA IRRADIACIÓN SOBRE LA HARINA DE SOJA CONTAMINADA CON *SALMONELLA ENTERICA SUBESPECIE ENTERICA*

AQUILI, Virginia[1] | GONZALEZ, Agustina[1] | MARZI, Sabrina Anabel[1] | MUÑOZ, Federico[1] | GODOY, Evangelina[2] | ACUÑA, Vanina[2] | ROUILLON, Adolfo[2] | **CASABONNE, Cecilia** [1]

ÁREA BACTERIOLOGÍA-DPTO DE MICROBIOLOGÍA-FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS-UNR [1]; CONGELADOS DEL SUR S.A. [2]

Introducción y Objetivos: El mercado de los alimentos se encuentra en constante desarrollo y transformación para la producción de alimentos más seguros para el consumidor. Esto conlleva a la incorporación de nuevas tecnologías que incrementen el valor agregado a nivel de la producción local. Los microorganismos presentes en los alimentos son muy preocupantes para la Salud Pública, por ello, la industria de los alimentos está interesada en mitigar la contaminación microbiológica de los alimentos y, así, evitar su transmisión al ser humano, principalmente, en respuesta al aumento de la demanda de productos saludables por parte del consumidor. Los productos vegetales, en concreto la harina de soja, al contrario de los que se creía, puede alcanzar contaminaciones por *Salmonella* de hasta un 40%. Dada la importancia de esta materia prima, sería necesaria una metodología rápida y eficaz para el control del mencionado patógeno bacteriano. En este sentido, el uso de la radiación ionizante para inactivar tanto el deterioro del alimento como a los microorganismos patógenos ha ido aumentando gradualmente en todo el mundo. El objetivo de este trabajo fue estudiar la efectividad de la irradiación sobre harina de soja a 1, 3, 6 y 15 kGy para control del patógeno alimentario *Salmonella enterica subespecie enterica*.

Materiales y Métodos: La muestra empleada fue harina de soya inoculada por pulverización con 8 log y 3 log UFC/ml de *Salmonella enterica subespecie enterica* ATCC 13076 (*S. enterica*) y envasadas en bolsas de 1 kg para cada tratamiento. En paralelo, se procesó harina de soja sin contaminar. El tratamiento ionizante consistió en aplicar dosis de radiación gamma de 1, 3, 6 y 15 kGy. Posteriormente, las muestras de harina fueron analizadas microbiológicamente para determinar el recuento de UFC/ml en agar Salmonella-Shigella y agar Xilosa-Lactosa-Desoxicolato. Al contaminar las superficies con un inóculo bacteriano de 3 log UFC/ml, se implementó un enriquecimiento selectivo previo a la siembra en medios selectivos. El recuento de *S. enterica*se realizó sobre las muestras de harina pre y post tratamiento ionizante.

Resultados: Las muestras de harina de soja contaminadas con un inóculo bacteriano alto demostraron una negativización en el recuento de *S. enterica* a dosis de 15 kGy. Por otra parte, las muestras contaminadas con bajo inóculo bacteriano demostraron una reducción a niveles no detectables luego de una dosis de irradiación de 6 y 15 kGy.

Conclusiones: El tratamiento con radiación ionizante gamma redujo significativamente el recuento de *S. enterica* en muestras de harina de soja contaminadas con este patógeno de transmisión alimentaria. Esta intervención estratégica, orientada a su aplicación en la cadena de producción de las formas elaboradas bajo los parámetros de operación de la empresa Congelados del Sur S.A. permitirá resolver un problema real que en la actualidad no está dimensionado.

JU 175

0236 - EFECTO BIOCIDA DEL TRATAMIENTO CON ÁCIDO Y SALES ORGÁNICAS SOBRE SUPERFICIES INERTES Y PRODUCTOS A BASE POLLO CONTAMINADOS CON *SALMONELLA ENTERICA* Y *ESCHERICHIA COLI* O157:H7

AQUILI, Virginia[1] | GONZALEZ, Agustina[1] | MARZI, Sabrina Anabel[1] | MUÑOZ, Federico[1] | VIDAL BRAMBILLA, Manuel[1] | GODOY, Evangelina[2] | ACUÑA, Vanina[2] | **CASABONNE, Cecilia** [1]

ÁREA BACTERIOLOGÍA-DPTO DE MICROBIOLOGÍA-FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS-UNR [1]; CONGELADOS DEL SUR S.A. [2]

Introducción y Objetivos: La contaminación de equipos, superficies e instalaciones por bacterias patógenas, como *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* Shigatoxigénica, podría ser responsable de la posterior contaminación de los alimentos durante su procesamiento. En la industria, la descontaminación de las superficies representa un gran desafío debido a la resistencia de bacterias potencialmente patógenas a los desinfectantes tradicionales y a la característica corrosiva o tóxica de muchos ellos. Otro punto crítico es la contaminación del alimento durante las sucesivas etapas de elaboración del mismo, en este sentido, se demostró que los ácidos orgánicos son bacteriostáticos en carne vacuna y porcina. Sin embargo, su capacidad para reducir las poblaciones bacterianas en cortes de pollo necesita ser validada. El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes aditivos alimentarios como agentes biocidas como una intervención estratégica durante el proceso de picado de carnes de pollo y durante la preparación de la masa del producto "Formas de pollo" para reducir la carga bacteriana de *Salmonella enterica subespecie enterica* y *Escherichia coli* O157:H7 y generar un producto con calidad sanitaria aceptable.

Materiales y Métodos: Las muestras empleadas fueron tiras de pechuga de pollo de 8x2x1 cm. Las piezas de la picadora fueron utilizadas sin inocular e inoculadas, por inmersión, con 8 log UFC/ml de *Salmonella enterica subespecie enterica* (*S. enterica*) y *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 y tratadas, posteriormente, con ácido láctico (AL) a concentraciones de 3, 4 y 5% por pulverización. Las muestras de pollo fueron picadas y, posteriormente, se realizó el recuento de *S. enterica* en UFC/ml en agar Salmonella-Shigella y agar Xilosa-Lactosa-Desoxicolato y de (*E. coli*) O157:H7 en agar MacConkey sorbitol y agar cromogénico. Por otra parte, se contaminó la masa destinada a la producción de "Formas de Pollo" con 8 log UFC/ml de *S. enterica* y (*E. coli*) O157:H7 y se evaluó el efecto del tratamiento con Lactato de sodio (2,5 y 3%) y Lactato-diacetato de sodio (2; 2,5 y 3%).

Resultados: Las piezas de la picadora contaminadas con los patógenos mencionados demostraron que, luego de la pulverización con AL, los recuentos bacterianos se redujeron significativamente. Por otra parte, el tratamiento de la masa "Formas de Pollo" no evidenció una reducción significativa en los recuentos de *S. enterica* y (*E. coli*) O157:H7 posterior al tratamiento con las sales orgánicas.

Conclusiones: El tratamiento de superficies y/o maquinarias con AL redujo significativamente los niveles de *S. enterica* y (*E. coli*) O157:H7. Estos datos serán útiles para la industria de la carne como una posible intervención contra *S. enterica* y (*E. coli*) O157:H7 contribuyendo al control de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos. De esta manera, la intervención a nivel de de tratamiento de superficies inertes contribuye al control de ambos patógenos, lo que constituye, en la actualidad, uno de los principales retos de inocuidad.

JU 176

0080 - QUESO DE CREMA: CONTAMINACIÓN ACCIDENTAL EN EL HOGAR

DE MAIO, Ramiro Jorge | SOLITO, Ana | STAGNARO, Stella Maris | MELITO, Graciela Sandra

UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES

Introducción y Objetivos: El queso de crema es un producto de amplio consumo en la población argentina dada su aceptación por resultar agradable y por formar parte de innumerables recetas. Debido a su presentación y al tipo de boca de expendio su uso está enfocado al hogar. Debido a su forma de consumo, el queso de crema es susceptible a alteraciones microbiológicas. Su manipulación en el hogar y el descuido en su forma de conservación son complementos desfavorables que pueden llevar a una contaminación accidental. Con el objetivo de demostrar la posibilidad de desarrollo microbiano por contaminación biológica en el producto industrial queso de crema ante diferentes variables de conservación en el hogar se llevó a cabo el estudio contaminando el queso de crema en el laboratorio con *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Ambas bacterias de amplia presencia en el hogar y potenciales generadoras de enfermedades trasmitidas por alimentos (ETA), especialmente de encontrarse en altas concentraciones; esto podría conllevar a patologías graves a nivel gastrointestinal.

Materiales y Métodos: En el artículo 613 del Código Alimentario Argentino (CAA) se indican las especificaciones microbiológicas para el queso de crema, siendo para el recuento de coliformes fecales menor a 3 UFC/g y para el recuento de *Staphylococcus* coagulasa positivo menor a 10 UFC/g. El producto se fortaleció con dichos microorganismos basándose en la metodología planteada en el "Ensayo de Eficacia" del Capítulo 80 de la Farmacopea Argentina. Previo a la fortificación, se controló el producto respecto de sus características organolépticas y de la calidad microbiológica del mismo, tomando como referencia lo especificado en el CAA. El control basal dio como resultado un producto apto para el consumo. Se evaluaron los cambios relacionados con la temperatura de conservación indicada en el rótulo. Para esto, se consideró una temperatura de conservación ideal o temperatura de heladera (TH) (2-8 ºC), temperatura ambiente (TA) (20 – 25 ºC) por el olvido accidental en el hogar y como referencia se analizó a temperatura de incubación (TI) (35 – 37 ºC), es decir una óptima de crecimiento para las bacterias.

Resultados: Trascurridos los 21 días de la inoculación, se obtuvieron recuentos nulos en aquellas muestras inoculadas con 10^2 UFC/g de producto y se alcanzaron resultados mensurables con recuento entre 4 x10^2 y mayores a 10^8 UFC/g en las muestras inoculadas con 10^6 UFC/g. Los valores obtenidos varían según la bacteria y las temperaturas de incubación utilizada en cada caso.

Conclusiones: Se concluye que es necesaria una elevada cantidad de microorganismo para la contaminación del producto, entendiendo que la misma puede ser posible si el mismo se manipula inadecuadamente. Además, el cumplimiento con las condiciones de conservación son fundamentales al momento de mantener la aptitud del producto. Es necesario indicar en el rotulo cómo manipular el alimento en cuestión y utilizar campañas de capacitación para evitar riesgos innecesarios.

JU 177

0058 - "DETERMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* EN QUESO FRESCO DE VACA COMERCIALIZADO EN EL MERCADO MODELO DE PIURA-PERÚ"

ELERA OJEDA, Rosario Nelly | MECHAN AYALA, Graciela Edita

UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

Introducción y Objetivos: Generalmente los microorganismos contaminan los alimentos en pequeñas cantidades, pero cuando encuentran en ellos las condiciones adecuadas para sobrevivir y multiplicarse pueden alcanzar niveles infectantes, producir toxinas y causar enfermedad. Dentro de los principales coliformes que ocasionan estas enfermedades se encuentra *Escherichia coli* responsable de la mayoría de brotes de Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Debido a que el departamento de Piura presenta las condiciones higiénico-sanitarias y medioambientales favorables para la presentación de ETA, se realizó este trabajo tuvo como objetivo evaluar la presencia de *E. coli* en quesos frescos comercializados en el Mercado Modelo de Piura, como indicador de contaminación fecal y como principal agente causal de ETA, considerando los criterios microbiológicos del queso fresco según la Norma Técnica Sanitaria N° 071- MINSA /DIGESA – 2008,

Materiales y Métodos: Se analizaron 5 muestras semanales de 10 puestos de venta, haciendo un total de 50 muestras. Se realizó el recuento de *E. coli* a través del método del número más probable (NMP). El trabajo se desarrolló en el mes de febrero del 2017. Los resultados por puesto fueron promediados y comparados con la tabla NMP (ISO 7218:2007) con el 95% de confianza.

Resultados: El NMP de *E. coli* en quesos frescos del Mercado Modelo de Piura en promedio fue de 1,8 x 10^2 NMP/g. Los 10 puestos de venta presentaron niveles rechazables de E. coli, esto podría deberse a la inadecuada conservación y manipulación durante la comercialización del queso fresco; es decir, que de las 5 muestras tomadas durante las 5 semanas de muestreo, cada puesto de venta tuvo más de 2 muestras recuentos superiores a "M" (10 NMP/g), rechazándose el puesto, considerando la Norma Técnica Sanitaria

(NTS) N°071-MINSA/DIGESA-2008. De las 5 muestras tomadas durante las 5 semanas de muestreo, sólo 7 puestos tuvieron una muestra con resultados inferiores a "m" (3 NMP/g) y 3 puestos tuvieron 2 muestras valores inferiores a "m". Ningún puesto de venta presentó muestras con valores comprendidos entre m y M.

Conclusiones: El queso fresco comercializado en el Mercado Modelo de Piura presenta valores de *E. coli* superiores a los parámetros establecidos en la NTS N° 071–MINSA/DIGESA–2008 y NTP 202.195.2004. INDECOPI-2004, por puesto de venta, siendo un alimento rechazable y representa un riesgo para la salud.

JU 178

0565 - VIDA ÚTIL DE ALIMENTO MODELO TRAS LA ADICIÓN DE MICROCÁPSULAS DE AJO

FARRANDO, Silvina [1] | LOCATELLI, Daniela[2] | CAMARGO, Alejandra[2]

CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS. UNCUYO [1]; CÁTEDRA QUÍMICA ANALÍTICA. FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS. UNCUYO [2]

Introducción y Objetivos: Durante la última década, ha habido un avance significativo en las áreas de descubrimiento y utilización de compuestos bioactivos en alimentos funcionales, para mejorar la salud de la población. El ajo, una de las hortalizas del género *Allium* de gran importancia regional, ha sido ampliamente estudiado por sus compuestos fitoquímicos organoazufrados, sin embargo, el empleo como ingrediente funcional se encuentra limitado por la inestabilidad de los mismos. La gelación iónica es una técnica que permite lograr su estabilización mediante microcápsulas de alginato de calcio (MC). Por lo que el objetivo del estudio fue evaluar la vida útil de las microperlas y su performance como aditivo alimentario en mayonesa, alimento seleccionado como sistema modelo.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron las MC mediante gelación iónica de una emulsión de aceite de oliva (AO) o de girasol (AG), lecitina de soja, con y sin homogenato de ajo. Se conservaron en refrigeración y se realizó el recuento de levaduras, mohos y recuento total de microorganismos psicrotolerantes, por el método Pour plate, semanalmente, durante 28 días. Se adicionaron las MC con ajo macerado en aceite de oliva, de girasol y con ajo fresco a la mayonesa casera, al 2%. Se conservaron durante 30 días a 4°C. Se realizó el recuento total de microorganismos (RT) por Pour plate y se midió la acidez e índice de peróxido.

Resultados: No hubo desarrollo microbiano en las muestras de las microperlas, con la metodología empleada (<1 ufc/microperla). En cuanto a las mayonesas, a partir del día 13 el RT aumentó significativamente en el testigo respecto de los tratamientos con MC de AO y AG ($7{,}5.10^2 \pm 24$; $3{,}0.10^2 \pm 90$ y $3{,}0.10^2 \pm 26$ ufc/g, respectivamente). Respecto a los parámetros fisicoquímicos a partir del día 9 la acidez de la muestra testigo aumentó significativamente. El índice de peróxido disminuyó a partir del día 20 en la muestra testigo con respecto a los tratamientos, lo que puede significar el progreso de la rancidez.

Conclusiones: Finalmente podemos decir que se logró la encapsulación de los principios activos del ajo y que la adición de las MC a la mayonesa resultó satisfactoria para la protección contra el crecimiento microbiano como así también para retardar los procesos de deterioro fisicoquímicos.

JU 179

0686 - CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE HORTALIZAS Y FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS DEL GRAN MENDOZA.

FARRANDO, Silvina [1] | SÁNCHEZ, María Laura[1] | PIZARRO, Marcela[2]

CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS. UNCUYO [1]; DEPARTAMENTO DE MORFOFISIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNCUYO [2]

Introducción y Objetivos: La elección de alimentos frescos, saludables y listos para consumir, se encuentra en franco aumento acompañando los cambios de hábitos del consumidor, el cual realiza al menos una comida fuera del hogar, presenta mayor interés por una alimentación sana, rechaza al uso de aditivos sintéticos y carece de tiempo para la preparación en el hogar. Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, es decir peladas, cortadas y presentadas en porciones individuales reúnen estas condiciones, su oferta ha crecido y se ha diversificado en hipermercados y verdulerías. Sin embargo, éstos pueden contaminarse con microorganismos patógenos durante el cultivo, cosecha, almacenamiento y transporte, así como durante su elaboración y, en consecuencia, han sido responsables de Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue evaluar la calidad microbiológica de hortalizas y frutas mínimamente procesadas del Gran Mendoza.

Materiales y Métodos: Se analizaron 70 muestras dentro del periodo de aptitud, obtenidas en su envase original, de góndolas de hipermercados de los departamentos con mayor densidad poblacional de la provincia. Se registraron los datos del rótulo. Se realizaron recuento total de microorganismos (RT), Coliformes Totales (CT) y *Escherichia coli*; se determinó *Salmonella* spp.

Resultados: Sólo el 11 % de los productos mencionaba en el rótulo la leyenda "Lavar antes de consumir" y el 16 % "Lavada, lista para consumir". El promedio del RT fue superior en hortalizas que en frutas mínimamente procesadas (7,8 y 5,5 $\log_{10}$ cfu/g) siendo las ensaladas que contenían entre sus ingredientes escarola, repollo, zanahoria y remolacha las que presentaron los mayores recuentos. El 60 % de las muestras presentó un NMP de CT mayor o igual a 1.1^3 NMP/g. Si bien el RT y CT no son parámetros legislados por el CAA, el 71 % presentaron un RT superior a 6 $\log_{10}$ cfu/g lo que, según normativas de otros países, indica una baja calidad sanitaria del producto. Se halló un recuento de E. coli superior a lo indicado en el CAA en 6 de los productos analizados (8,6%) y presencia de Salmonella en 1 muestra de sandías peladas y cortadas (1,4%). De las muestras analizadas el 91,5 % cumple con lo establecido en el CAA para los parámetros evaluados, mientras que el resto no son aptas por la presencia de *Salmonella* spp o por un recuento de *E. coli* superior a lo indicado en la legislación. Sin embargo, los valores altos de RT y CT hallados reflejan que las condiciones higiénico – sanitarias permiten la llegada y/o multiplicación de bacterias patógenas, con el agravante que estos productos son consumidos crudos y que en la mayoría de los casos no se mencionaba si era necesario lavar antes de consumir.

Conclusiones: Por lo tanto, es necesario mejorar las condiciones durante toda la cadena de elaboración, considerando a cada una de las partes involucradas como manipuladores de alimentos con el objeto de asegurar la inocuidad de frutas y hortalizas mínimamente procesadas disponibles en el Gran Mendoza.

JU 180

0541 - UTILIDAD DE LA INMUNOCONCENTRACION AUTOMATIZADA PARA EL AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN ALIMENTOS

FIGUEROA, Yamila Paula | GENTILUOMO, Jimena Paola | GRISARO, Agustina | BUFFONI, Mariana | ZIPENCO, Nadia | SUCARI, Adriana

DIVISIÓN HIGIENE Y SEGURIDAD ALIMENTARIA Y AMBIENTAL. STAMBOULIAN LABORATORIO

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno de transmisión alimentaria que puede producir diarrea con o sin sangre y, en los casos graves, síndrome urémico hemolítico (SUH), principalmente en niños y ancianos. El SUH es la principal causa pediátrica de insuficiencia renal y del 20% de los trasplantes renales. Según los datos reportados por el Instituto Malbrán, el serotipo de mayor prevalencia en Argentina (74% de los casos de SUH) es O157:H7, detectándose en el 26% restante STEC no O157. En el año 2015 se incorporó al Código Alimentario Argentino (CAA) criterios microbiológicos para STEC no O157 en los artículos 156 tris, 255, 302 y 925 quáter. El CAA especifica ausencia de STEC de los serogrupos: O145, O121, O26, O111 y O103. Se tienen en cuenta solo los aislamientos positivos para los genes *stx* y *eae*, de los serogrupos mencionados. Este criterio se suma a la ausencia de STEC O157:H7 que se especificaba previamente. Para llegar al aislamiento, uno de los pasos críticos es la inmunoconcentración para los serogrupos detectados en el tamizaje por PCR en tiempo real. Para evaluar la utilidad de un método de inmunoconcentración automatizado, se realizó un ensayo comparativo entre VIDAS® Up *E.coli* Serogroups (ESPT) y el método de separación inmunomagnética manual (Neogen® Company). Esta última se realiza con partículas inmunomagneticas recubiertas con anticuerpos específicos para cada serogrupo que lleva varios pasos: separación con un dispositivo imantado el cual tiene seis posiciones, etapas de agitación y tiempos de reposo para luego sembrar en medios selectivos y diferenciales. Para la inmunoconcentración con VIDAS, se coloca el caldo de enriquecimeinto en una tira donde se concentran los 6 serogrupos juntos y la totalidad del proceso se realiza dentro del equipo para 12 ensayos en simultáneo, durante 30 minutos en total. Se ensayaron 42 muestras recibidas en nuestro laboratorio con resultado positivo presuntivo tanto para *stx*, *eae* y uno o más serogrupos por método de tamizaje. A partir del caldo de enriquecimiento se realizó inmunoconcentración por ambos métodos, aislamiento en agar TBX y detección y caracterización de las colonias aisladas según la norma ISO 13136:2012. De las muestras estudiadas, 34 fueron negativas por cultivo mientras que en 8 se aisló STEC por ambos métodos. Los aislamientos correspondieron a: 1 STEC O103 y O26 en la misma muestra, 1 STEC O26, 1 STEC O121, 4 STEC O157:H7 y 1 *E.coli* O157:NM no toxigénica. Se obtuvo un 100% de acuerdo entre ambos métodos. La automatización permite que todos los pasos se realicen en el equipo reduciendo la manipulación, la posibilidad de contaminación cruzada y el tiempo de detección, con un mayor número de muestras ensayadas en simultáneo.

JU 181

0489 - DETECCION DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN UNA PLANTA ELABORADORA DE ALIMENTOS LISTOS PARA CONSUMO

GENTILUOMO, Jimena Paola | FIGUEROA, Yamila | GRISARIO, Agustina | BUFFONI, Mariana | ZIPENCO, Nadia | SUCARI, Adriana

DIVISIÓN HIGIENE Y SEGURIDAD ALIMENTARIA Y AMBIENTAL. STAMBOULIAN LABORATORIO

Introducción y Objetivos: *Listeria monocytogenes* (Lm) se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza y presenta la capacidad de resistir y adaptarse a diferentes condiciones ambientales, pudiendo sobrevivir y multiplicarse a bajas temperaturas. En el hombre produce listeriosis, enfermedad transmitida por el consumo de alimentos que puede cursar con gastroenteritis febril leve hasta meningitis y septicemia en adultos inmunocomprometidos, niños y embarazadas. La presencia de Lm en las materias primas y el ambiente representan un potencial riesgo de contaminación en alimentos listos para consumo y deben ser rigurosamente estudiados según las normativas propuestas en el Artículo 156 tris – (Resolución Conjunta SPReI y SAV N° 4 - E/2017), Capítulo III del Código Alimentario Argentino. En nuestro laboratorio, se analizaron 122 muestras de una planta productora de alimentos listos consumo para detección de Lm por el métodoinmunoenzimático Vidas LMX de Biomerieux y su confirmación por cultivo tradicional. Se detectó que el 49% de productos terminadosdestinados a la distribución estaban contaminados con Lm. Las muestras positivas correspondieron a una variedad de sándwich con fiambre feteado.Con estos resultados se enviaron para detección de Lm las materias primas empleadas para la elaboración de dichos alimentos.Se recibieron fiambres en el envase primario sin abrir y feteados en la planta correspondientes a 8 tipos y lotes diferentes de queso y jamón. 3 de las 8 muestras fueron positivas para Lm, de los cuales solo se pudo detectar en la muestra feteada y no en el original. En una segunda etapa se realizóesponjado de superficie para búsqueda de Lm en equipamientoy superficies involucradas en el proceso. De los 59 esponjados recibidos, 24 arrojaron detección de Lm, correspondiendo a una máquina feteadora, su entorno y rejillas de producción. La planta realizó una sanitización integral de cada uno de los puntos detectados con control posterior que arrojó resultados negativos. Con estosdatos se implementó un control periódico de superficies y productos terminados con un plan continuo de sanitización para controlar la reaparición de Lm en la planta.

JU 182

0772 - CONTROL DE LA POBLACION DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* SCOTT A EN MODELO ALIMENTARIO DE HAMBURGUESAS

GOMEZ, Johana[1] | PEREIRA, Claudia Elizabeth[1] | VALLEJO, Marisol[2] | MARGUET, Emilio[3] | **GIANNI DE CARVALHO, Katia** [1]

PROIMI [1]; UNPSJB [2]; UNPSJB [3]

Introducción y Objetivos: La capacidad de *Listeria monocytogenes* para crecer en un amplio rango de temperaturas y bajo pH, y su alta tolerancia a la sal, dificultan su control en alimentos. Un medio prometedor para controlar e incluso reducir las poblaciones de *L. monocytogenes* en los alimentos, es mediante el uso de bacteriocinas de bacterias lácticas (BL), ya sean producidas in situ o agregadas a los mismos. En el presente estudio, se planteó como objetivo evaluar la capacidad de tres extractos concentrados de bacteriocinas, provenientes de los cultivos de *Enterococcus mundtii* Tw56, Tw802 y Tw807, para inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes* Scott A en un modelo alimentario de hamburguesas.

Materiales y Métodos: Los extractos antilisteria fueron obtenidos empleando el método de purificación descripto por Yang et al. (1992), seguido de una cromatografía de fase reversa. Las hamburguesas se prepararon a partir de los músculos del cuadríceps femoral según el método descrito por Acuña et al.(2015), La carne molida se fraccionó (A-E) y se inocularon de la siguiente manera: porción A: *L. monocytogenes* Scott A 10^4 UFC/g; porción B: E. muntiiTw56 o Tw802 o Tw807 10^7 UFC/g; porción C: extracto antilisteria (10^4 UA/g) de *E. muntii* Tw56 o Tw802 o Tw807; porción D: *L. monocytogenes* Scott A 10^4 UFC/g y *E. muntii* Tw56 o Tw802 o Tw807 10^7 UFC/g y porción E: *L. monocytogenes* Scott A 10^4 UFC/g y extracto antilisteria (10^4 UA/g) de *E. muntii*Tw56 o Tw802 o Tw807. Las porciones A, B y C, son los controles de *L. monocytogenes* Scott A, BL (*E. muntii* Tw56 o Tw802 o Tw807) y los extractos antilisteria, respectivamente. Se almacenaron a 4 °C en placas de Petri estériles durante 15 días. Se tomaron muestras de cada condición los días 0, 1, 3, 5, 7, 10 y 15. Se prepararon diluciones decimales para realizar recuentos viables. Para el recuento de *L. monocytogenes* se empleó el medio Oxford Agar (Biokar) y para las BL el medio LAPTg con pH modificado a 5,5 incubados por 48 h a 37 °C, mientras que para mesófilos totales LAPTg con un pH neutro, incubado 48 h a 30 °C. Se realizaron dos ensayos independientes por duplicado.

Resultados: La población de *L. monocytogenes* Scott A en el modelo alimentario de hamburguesas que contiene el extracto antilisteria de *E. muntii* Tw56 disminuyó desde 4 log UCF/g el día 0 hasta que desaparece completamente el día 3, y en presencia de los otros extractos desaparece recién en el día 7. Por otro lado, la población de L. monocytogenes en presencia de las BL productoras desaparece en el día 5. Mientras que, sin la adición de extractos ni de las BL, el crecimiento de L. monocytogenes se mantuvo constante durante los 15 días.

Conclusiones: Los resultados obtenidos, evidencian el potencial de aplicación de dichos extractos así como el agregado de las BL productoras, para inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes* a lo largo de la vida útil esperada de un alimento procesado.

JU 183

0678 - DETECCIÓN DEL GEN *HLE* DE LA TOXINA TERMOLÁBIL DE *ESCHERICHIA COLI* EN PREPARADOS ARTESANALES

GUERRERO ALVA, Dániza Mirtha

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

Introducción y Objetivos: Actualmente se dispone en los mercados de algunos alimentos preparados a base de carne y sangre que no provienen de la industria, sino de la producción artesanal, tal es el caso de la salchicha de Huacho, relleno, chorizo y hamburguesa, de amplio consumo popular. Se adquieren crudos o listos para comer en pan, y en su procesamiento emplean sales de nitro (salchicha de Huacho y chorizo). Por otro lado, la transmisión de la bacteria *Escherichia coli* que produce la toxina termolábil causante de episodios diarreicos proviene de alimentos procesados manualmente y agua contaminados, reportándosele además en carne de vacuno, de cerdo, de aves de corral y carne picada e insuficientemente cocida; no contándose con información en los productos artesanales en estudio. Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la presencia del gen hle que produce la toxina termolábil de *Escherichia coli* en los preparados artesanales (salchicha de Huacho, relleno, chorizo y hamburguesa), mediante PCR y verificar el cumplimiento de la normativa nacional referente a la cantidad de nitratos y nitritos en alimentos.

Materiales y Métodos: Se estudió 22 muestras biológicas correspondientes a los productos artesanales a base de carne y sangre, 12 muestras crudas y 10 muestras cocidas, colectadas en dos mercados de Lima y un mercado del puerto del Callao.

Resultados: Se obtuvo seis resultados positivos en muestras crudas para el gen *hle* de ETEC, con una incidencia de (6/12, 50%), y en muestras cocidas hubo tres muestras positivas (3/10, 30%). El producto artesanal más contaminado fue el chorizo (3/6, 50%) y el menos contaminado la salchicha de Huacho (2/6, 33.34%). Una muestra cruda (de chorizo) y una muestra cocida (de relleno) contuvieron valores superiores a los permitidos de nitratos, pero los contenidos de nitritos de todas las muestras sí estuvieron dentro de la normatividad vigente.

Conclusiones: En las 22 muestras estudiadas se determinó mediante PCR cualitativa, la presencia del gen hle de ETEC en 9 muestras equivaliendo al 40,90%(9/22) del total; por lo que se requiere implementar medidas de higiene y buenas prácticas de manufactura a fin de proteger a los consumidores, ya que podría convertirse en un grave problema de salud pública especialmente en las estaciones con mayor temperatura ambiental.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

JU 184

0955 - MICROENCAPSULACIÓN DE *LACTOBACILLUS SALIVARIUS* LET 201 CON PROTEÍNA DE SOJA Y ALGINATO

BABOT, Jaime Daniel[1] | **ARGAÑARAZ MARTINEZ, Fernando Eloy** [2] | QUIROGA, María[2] | LÓPEZ RIZO, María Carolina[1] | APELLA, Maria Cristina[1] | PEREZ CHAIA, Adriana[1]

CERELA-CONICET [1]; INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE BIOQUÍMICA, QUÍMICA Y FARMACIA. UNT [2]

Introducción y Objetivos: La prohibición en muchos países del uso de antibióticos como promotores del crecimiento en la producción avícola y la presión de los consumidores por una producción cada vez más natural, han impulsado la búsqueda de alternativas para reemplazar estas drogas. Los probióticos presentan el potencial para reemplazar el uso subterapéutico de antibióticos, sin embargo las condiciones adversas del tracto gastrointestinal del ave limitan su aplicación. Es por ello que el objetivo del presente estudio fue evaluar la producción de microcápsulas usando una combinación de proteína de soja aislada (SPI) y alginato de sodio, y la efectividad de estas para proteger de las condiciones imperantes en el tracto gastrointestinal de pollos a la cepa con características probióticas *L. salivarius* LET 201.

Materiales y Métodos: En primer lugar, se compararon mediante SDS-PAGE los perfiles de proteínas de SPI elaborado en el laboratorio y SPI comercial. Luego, se evaluó tamaño y morfología de las microcápsulas obtenidas mediante la técnica de emulsión de agua en aceite, utilizando SPI 60 mg/mL y alginato de sodio 0,02% como material polimérico, y aceite de soja u oliva como fase oleosa. Finalmente, se realizó la microencapsulación de *L. salivarius* LET 201, evaluándose la eficiencia de microencapsulación y la resistencia del microorganismo, encapsulado o libre, a soluciones que simulaban el jugo gástrico (1 h a 41,5 °C, con y sin pepsina) y pancreático (2 h a 41,5 °C, con y sin pancreatina) del ave. Los perfiles de proteínas, tanto del SPI comercial como del elaborado en el laboratorio, no mostraron diferencias.

Resultados: Debido a esto, se continuó trabajando con la versión comercial de SPI debido a su bajo costo y al prolongado protocolo necesario para elaborarlo en el laboratorio.Las microcápsulas obtenidas empleando aceite de soja o de oliva no difirieron en tamaño (29,25 ± 7,66 µm y 30,12 ± 10,57 µm de diámetro, respectivamente) y morfología (esféricas en ambos casos) entre sí. La microencapsulación de *L. salivarius* LET 201 mostró una eficiencia de 99,99%, obteniéndose microcápsulas esféricas de 30,16 ± 11,40 µm, un tamaño similar al de las obtenidas previamente en ausencia de la bacteria. En comparación con el microorganismo libre, *L. salivarius* LET 201 microencapsulado presentó pérdidas de viabilidad significativamente menores ($p <= 0,05$, test T) luego de la digestión gástrica en presencia de pepsina y luego de la digestión intestinal en ausencia de pancreatina.

Conclusiones: Estos resultados sientan las bases para el desarrollo de un producto probiótico para aves que incluya bacterias benéficas que alcancen con alta efectividad en estado viable el intestino del animal.

CAMA - Seguridad alimentaria, calidad, higiene, inocuidad

JU 185

0431 - ESTUDIO DEL IMPACTO DE RESIDUOS DE LEVAMISOL SOBRE UN FERMENTO COMERCIAL APLICADO A LECHE CAPRINA

LÚPORI, Jorgelina [1] | BRUSCHI, Julieta[2] | VERA, María Soledad[2] | MONTERO, Gabriela[2] | IMPERIALE, Fernanda[1]

CIVETAN-CONICET, FCV-UNCPBA, CICPBA [1]; FCV-UNCPBA [2]

Introducción y Objetivos: La utilización extra marbete del fármaco antiparasitario levamisol (LVM) en tambos puede generar residuos en leche que constituyen un riesgo para la salud pública. Es importante conocer si dichos residuos son detectados en la industria y si afectan la fermentación de las bacterias ácido lácticas (BAL) responsables de la producción de ácido láctico y desarrollo de sabor y aroma en la elaboración de queso. En ensayos previos con cabras, se detectaron niveles residuales de LVM en leche a las 4 horas (0,6 µg/ml) y 8 horas (0,3 µg/ml) post-administración. El objetivo de este trabajo fue valorar el impacto de dos concentraciones residuales de LVM (0,6 µg/ml y 0,3 µg/ml) en leche caprina sobre la actividad de un fermento comercial utilizado para elaborar queso.

Materiales y Métodos: Se utilizó leche entera reconstituida (100 g/l) y tratada 30 min a 0,5 atm. Se empleó el fermento RSF-742 CHR HANSEN según las indicaciones del fabricante. La leche fue fraccionada en tres partes iguales (MC, MC1, MC2) y adicionada con el fermento comercial al 1%. MC1 y MC2 fueron además adicionadas con LVM a una concentración de 0,6 µg/ml y 0,3 µg/ml, respectivamente. Fueron tomados 100 µl de MC, MC1 y MC2 para determinar la presencia de inhibidores mediante Delvotest® SP-NT. Posteriormente, MC, MC1 y MC2 fueron incubadas a 37ºC en baño termostático. Se realizó la toma de muestras a los 0, 60, 120, 160, 200, 240 y 280 min ó hasta alcanzar un pH de 5,3, equivalente al valor de prensado en fábrica. Se determinaron los parámetros de acidez, mediante el método de acidez titulable (AOAC-947.05), pH (pHmetro Corning modelo 220) y el recuento de Microflora Láctica Total (MLT) con incubación de las placas a 37°C durante 48 hs. El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa INSTAT, mediante ANOVA.

Resultados: El Delvotest® SP-NT dio negativo a la presencia de inhibidores en todas las muestras. Los resultados se expresan como promedio ± desvío estándar. Los valores de pH para MC, MC1 y MC2 a los 0 min fueron: 6,65 ± 0,01, 6,57 ± 0,01 y 6,57 y a los 280 min fueron: 5,29, 5,24 ± 0,01, 5,26 ± 0,04, respectivamente. El porcentaje de ácido láctico a los 0 min fue 0,1 % para todas las muestras y a los 280 min fueron: 0,34 % ± 0,01, 0,35 %± 0,01 y 0,35 % para MC, MC1 y MC2, respectivamente. Los recuentos iniciales de MLT fueron: 6,46 $\log_{10}$ UFC/ml ± 0,01 para MC; 6,51 $\log_{10}$ UFC/ml ± 0,06 para MC1 y 6,27 $\log_{10}$ UFC/ml ± 0,26 para MC2 y a los 240 min todos los valores fueron superiores a 8,1 $\log_{10}$ UFC/ml.

Conclusiones: Los valores de pH, acidez y recuento de MLT no mostraron diferencias significativas ($p<0,05$) entre las muestras, por lo tanto concluimos que las concentraciones de LVM utilizadas en este ensayo no interfieren en la actividad del fermento estudiado. Cabe destacar que estas concentraciones residuales de LVM halladas en leche luego de su administración en caprinos no son detectadas por el método utilizado de rutina en la industria, por lo cual la misma no posee formas de evidenciar su presencia.

JU 186

0991 - EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE RECUPERACIÓN DE VIRUS A PARTIR DE HORTALIZAS DE HOJA

MAIDANA KULESZA, Maria Noel | RAJAL, Verónica Beatriz | POMA, Hugo Ramiro

INIQUI-CONICET, UNSA

Introducción y Objetivos: En los últimos años se han detectado brotes de gastroenteritis víricas, donde las verduras y frutas frescas han sido identificadas como vehículos de dichos patógenos. Hasta la fecha no se ha logrado estandarizar una metodología común para la recuperación de virus patógenos a partir de matrices alimenticias, como hortalizas frescas. Dado que los virus se encuentran en bajas concentraciones en el ambiente, es indispensable una metodología de alta sensibilidad de detección. El primer paso para una buena recuperación es desprender eficazmente las partículas virales de la matriz. El objetivo de este trabajo fue comparar tres buffers de elución diferentes para evaluar la eficiencia de recuperación viral a partir de dos tipos de hortalizas de hoja.

Materiales y Métodos: Se inocularon artificialmente muestras de rúcula (*Eruca sativa*) y lechuga (*Lactuca sativa*) con 100 µL de tres concentraciones distintas de PP7, fago de *Pseudomonas aeruginosa*. Se trata de un virus de RNA, de tamaño pequeño (25 nm) y propiedades fisicoquímicas semejantes a las de poliovirus, los miembros más pequeños de la familia de los enterovirus. En primer lugar, se utilizó un buffer de Extracto de carne (BE); en segundo lugar, se probó un buffer de Glicina (G) y por último un buffer de Tris-Glicina-Extracto de carne (TGBE). Se colocaron las muestras inoculadas (10 g) en agitación continua por 2 h a 200 rpm, probando cada uno de los buffers (90 mL), mencionados anteriormente. Luego se realizó la concentración de los virus con Polietilenglicol (PEG), se efectuó la extracción de ácidos nucleicos y se cuantificaron las copias genómicas (CG) por RT-qPCR con sonda TaqMan®.

Resultados: Con el buffer TGBE se recuperaron 5, 17 y 20 veces más CG, que las obtenidas con el buffer G, para concentraciones virales alta, media y baja, respectivamente, en lechugas. Para las plantas de rúcula, sembradas con concentraciones virales alta, media y baja, usando el buffer TGBE se obtuvieron 15, 4 y 9 veces más CG, respectivamente, en comparación con el buffer G. Las recuperaciones de copias genómicas obtenidas con el buffer BE fueron 4, 9 y 7 veces mayores que las obtenidas con el buffer G, en lechugas sembradas con concentraciones virales alta, media y baja, respectivamente. Para rúcula inoculada con concentración alta, el buffer BE fue superior en un orden de 13 veces, en comparación con el buffer G; en rúcula inoculada con concentración viral media, usando el buffer BE, se obtuvieron 3 CG por cada CG recuperada con el buffer G; aunque en rúcula con inóculo de baja concentración no hubo diferencia en los valores de recuperación.

Conclusiones: El buffer TGBE permitió obtener porcentajes de recuperación significativamente mayores que aquellos obtenidos con los buffers BE y G. En consecuencia, se presenta como el más adecuado para mejorar el método de recuperación viral en matrices alimenticias. Con el buffer TGBE se obtuvieron buenos resultados aún con concentraciones virales bajas, por lo que se podría utilizar con muestras ambientales.

JU 187

0290 - VARIACIÓN ESTACIONAL DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA Y LA CONCENTRACIÓN DE NITRATOS EN AGUAS SUBTERRÁNEAS DEL CINTURÓN HORTÍCOLA DE SIERRA DE LOS PADRES, BUENOS AIRES, ARGENTINA

RIVERA, Juan Manuel [1] | ANDREOLI, Yolanda[1] | PURICELLI, Marino[2] | CASTELLARI, Claudia[1] | MARCOS VALLE, Facundo[1]

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS (UNMDP) [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA [2]

Introducción y Objetivos: El agua es un alimento esencial para la vida. En la región Pampeana, la fuente de agua más frecuente es la subterránea y, a través de la misma se pueden trasmitir microorganismos patógenos y sustancias químicas que atentan contra la salud, por lo que resulta de especial importancia conocer su aptitud para consumo humano. El objetivo del presente trabajo fue determinar la contaminación bacteriológica y la concentración de nitratos (NO_3^-) en aguas subterráneas en diferentes estaciones climáticas del año.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron 30 muestras de agua de pozo, correspondientes a 10 sitios en el cinturón hortícola de Sierra de los Padres, General Pueyrredón, Buenos Aires. Se analizaron los parámetros bacteriológicos que establece el Código Alimentario Argentino (CAA) para determinar la potabilidad para consumo humano: Coliformes Totales (CT, determinados por fermentación en tubos múltiples en caldo Lactosado Verde Brillante Bilis incubados a 37°C durante 48h), presencia de *Pseudomonas aeruginosa* (determinada en medio agar cetrimida e incubada a 37°C durante 24h), presencia de *Escherichia coli* (confirmada por la producción de indol a partir del triptofano a 44,5°C) y recuento de bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT, determinadas por recuento directo de colonias en placa de Petri con medio de cultivo Agar Nutritivo e incubadas a 37°C durante 48h). Paralelamente, se determinó la concentración de NO_3^- (a través de la reacción del anión NO_3^- con salicilato de sodio y medido fotométricamente a 405 nm). La variación en la profundidad de la capa freática fue medida a través de una sonda freatimétrica.

Resultados: El 69% de las muestras resultaron no aptas para consumo humano según las exigencias bacteriológicas del CAA, siendo CT el principal responsable de la no aptitud (85%) seguido de BAMT (45%), E. coli (10%) y *P. aeruginosa* (10%). La aptitud bacteriológica de las muestras de agua no varió entre las estaciones climáticas (invierno, primavera y verano) registrándose el 30% aptas y 70% no aptas. Sin embargo, se detectaron variaciones en los parámetros responsables de la no aptitud bacteriológica de cada pozo según la estación climática. El 75% de las muestras evidenció una concentración de NO_3^- inferior al límite establecido por el CAA (45 ppm); ascendiendo en verano al 89%, evidenciando una variación estacional. El 20% de las

muestras no aptas según los parámetros bacteriológicos excedieron además las 45 ppm de NO_3^-. Las variaciones del nivel freático fueron mínimas (0,25 m a 1,8 m) para una zona dedicada primordialmente a la producción intensiva bajo riego con agua subterránea. Estas mediciones señalarían la independencia de las variaciones estacionales y la dinámica local del acuífero.

Conclusiones: Debido a las variaciones estacionales observadas en los parámetros analizados en cada pozo, resulta evidente la necesidad de analizar periódicamente el agua para consumo humano.

JU 188

0706 - VIGILANCIA DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN ALIMENTOS DURANTE LOS AÑOS 2017 Y 2018 EN LA CIUDAD DE BUENOS AIRES.

MINGORANCE, Santiago Emmanuel | MELAMED, Celia | MOYANO, Mailen | PONTONI, Andrés | STEFANINI, María | SANCHEZ, Silvana | SPIOUSSAS, Silvia | EPSZTEYN, Sergio

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y MONITOREO, DIRECCIÓN GENERAL DE HIGIENE Y SEGURIDAD ALIMENTARIA, AGC

Introducción y Objetivos: *Listeria monocytogenes*, es agente responsable de enfermedades transmitidas en alimento, difíciles de vincular epidemiológicamente con el producto contaminado, debido al largo periodo de incubación que puede extenderse hasta 6 semanas desde la ingesta del alimento a la aparición de los síntomas, y que pueden llegar a ser muy severos para grupos poblacionales vulnerables, (listeriosis neonatal y fetal, adultos inmunosuprimidos, ancianos). Es un microorganismo psicrófilo que sobrevive en condiciones de Aw y pH que otros patógenos no toleran y posee la capacidad de formar biofilms en casi cualquier superficie, lo que hace que sea especialmente difícil su erradicación en plantas industriales de alimentos. En este trabajo se presenta el resultado de la vigilancia de Listeria monocytogenes en diferentes alimentos, a nivel de boca de expendio, llevado a cabo por la Subgerencia operativa laboratorio de investigación y monitoreo de la Dirección General de Higiene y Seguridad Alimentaria durante los años 2017 y 2018 en CABA.

Materiales y Métodos: Los alimentos analizados fueron aquellos para los cuales existe un criterio microbiológico en el Código Alimentario Argentino y adicionalmente, otros productos como vegetales congelados, por eventos particulares que lo hicieron necesario. Todos los aislamientos se realizaron según la norma ISO 11290:2017 para la detección y enumeración de *Listeria monocytogenes* en alimentos.

Resultados: Los resultados muestran un aumento entre el 2017 y el 2018 en la prevalencia de *Listeria monocytógenes* en alimentos, pasando del 0,63 % al 2,04 % sin discriminar por matriz. Este aumento es particularmente significativo en chacinados con un incremento de casi un 10% (6,03 %en el 2017 a un 15,56 % en el 2018). En las comidas preparadas también se observa un claro incremento del 0,42 % al 1,95 % (prácticamente se cuadruplicó el nivel de aislamientos). En los primeros meses del 2018 se registró un importante brote de listeriosis que afectó distintos países de la Comunidad Europea. El alimento involucrado en el evento fue un lote de verduras congeladas procedentes de Hungría, que se exportó a diferentes países, incluyendo la Argentina. Esto determinó la inclusión de estos productos y de subproductos derivados en el Plan de Monitoreo. Se aisló *Listeria monocytogenes* en un 30 % y de los envases de vegetales congelados analizados.

Conclusiones: A pesar de ser un microorganismo responsable de cuadros severos de ETA en grupos poblacionales vulnerables, y de su alta prevalencia en un amplio espectro de matrices heterogéneas, no se hay datos epidemiológicos que permitan medir su impacto en la Salud Pública de nuestro país.

JU 189

0638 - CALIDAD HIGIÉNICA DE LECHE CRUDA DE TAMBOS DE LA CUENCA MAR Y SIERRAS.

MONTERO, Gabriela | BRUSCHI, Julieta | VERA, Maria Soledad | CIVIT, Diego

FCV-UNCPBA

Introducción y Objetivos: La leche cruda, por sus características y composición, es un medio propicio para el desarrollo de bacterias. Si bien es una secreción estéril, la contaminación microbiana generalmente ocurre a partir del interior/exterior de la ubre o por contacto con suciedad de la superficie de los equipos de ordeño y del tanque de almacenamiento de leche en el tambo. El recuento de bacterias totales a 30°C (RBT) se utiliza como parámetro de calidad higiénica de la leche. El análisis de los resultados del RBT debe realizarse teniendo en cuenta la existencia de diferentes valores de referencia. A nivel internacional, el National Mastitis Council establece como valor ideal menos de 10.000 UFC/cm^3. En Argentina, el artículo 556 tris del Código Alimentario Argentino (CAA) indica como límite máximo 200.000 UFC/cm^3; por otro lado, en el año 2016 el Ministerio de Agroindustria creó el Sistema Integrado de Gestión de la Lechería Argentina (SIGLEA) y estableció la Leche de

Referencia a nivel nacional, con un RBT menor o igual a 100.000 UFC/cm^3. En base a este y otros parámetros las empresas lácteas implementan su sistema de pago por calidad y aplican bonificaciones y/o penalizaciones según el valor obtenido por cada tambo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad higiénica de la leche cruda de tambos de la Cuenca Mar y Sierras.

Materiales y Métodos: El estudio se realizó en tambos del Partido de Tandil (Provincia de Buenos Aires), durante el año 2018. Se analizaron 560 muestras de leche de tanque provenientes de 65 establecimientos. La toma de muestras se realizó según norma FIL-IDF 50C:1999. La leche se refrigeró a 4°C y, dentro de las 24 horas, se realizó el RBT a 30°C según Norma ISO 4833-1:2013, en el Laboratorio de Calidad de Leche (LabCaLe) del Departamento de Tecnología y Calidad de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNCPBA).

Resultados: En el año 2018, el RBT (promedio ± desvío estándar) fue de 131.262 ± 49.504 UFC/cm^3, con un valor promedio mensual máximo de 247.531 UFC/cm^3 en diciembre y mínimo de 60.874 UFC/cm^3 en febrero. En comparación con los valores de referencia mencionados, los 12 meses tuvieron un RBT superior a 10.000 UFC/cm^3, 9 meses superaron las 100.000 UFC/cm^3 y un mes superó los 200.000 UFC/cm^3.

Conclusiones: Dada la importancia de la calidad microbiológica de la leche cruda para su procesamiento industrial, resulta necesario mejorar las prácticas de higiene en el tambo para disminuir la carga microbiológica inicial y así cumplir con los estándares de calidad.

JU 190

0296 - ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE *PENICILLIUM* AISLADOS DE LA SUPERFICIE DE SALAMINES ARTESANALES A BASE DE CARNE CAPRINA DE SANTIAGO DEL ESTERO

TEVEZ CIAPPINO, Maria Noel | OBERLANDER, María Virginia | BRAVO, Rita Alejandra | PAZ, María Mercedes | NEDIANI, Miriam Teresa

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO

Introducción y Objetivos: Las especies de *Penicillium* aisladas de productos cárnicos se encuentran involucrados en la mejora de las características organolépticas y en la prevención del crecimiento de sustancias patógenas, toxigénicas o de deterioro. Se debe tener en cuenta que el desarrollo de una micobiota espontánea en la superficie de estos productos lleva consigo dos problemas: la falta de homogeneidad en la producción y el riesgo de desarrollo de especies de hongos micotoxígenos y/o productores de antibióticos. El objetivo de este trabajo fue estudiar de forma cualitativa la actividad antimicrobiana de hongos del género *Penicillium* aislados previamente de la superficie de salamines artesanales a base de carne caprina.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 50 aislados del género *Penicillium*. Se observó que dichos aislamientos pertenecieron a *P. camemberti*, *P. nalgiovense*, *P. chrysogenum*, *P. olsonii* y *P. gladioli*. La capacidad de las especies aisladas para producir alguna sustancia antibacteriana se analizó mediante bioensayo utilizando *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313), *Escherichia coli* (ATCC 8739). Los *Penicillium* aislados se sembraron en placas de Petri con agar extracto de malta (MEA) a 25°C durante 10 días. Se extrajeron discos de agar (1cm de diámetro) con una capa de micelio superficial, se colocaron luego sobre agar tripticase de soja (TSA) al 1% y se incubaron durante 24h a 25°C. Posteriormente se añadió una capa de medio TSA 1% inoculado con *M. luteus*, *L. monocytogenes* y *E. coli* a las placas con los discos, se incubaron a 4°C durante 4h para permitir la difusión de los compuestos solubles y luego a 37°C durante 24h para obtener las zonas de inhibición. Simultáneamente, las placas de control con penicilinasa se inocularon con *M. luteus*, *L. monocytogene*y *E. coli* para comprobar si la actividad antibacteriana observada se debía a la presencia de penicilina o a algún otro compuesto antibacteriano. Se realizó análisis estadístico ANOVA y la prueba de Tukey ($P<0.05$), Infostat.

Resultados: Los *Penicillium* aislados se probaron para detectar productores de penicilina. No se detectó actividad antibacteriana en *P. camemberti* y *P. gladioli*. Sin embargo, *P. nalgiovense*, *P. chrysogenum* y *P. olsonii* mostraron diferencias significativas ($P<0.05$) en los diámetros de los halos de inhibición en los bioensayos de difusión con *M. luteus*, *L. monocytogenes* y *E. coli*. La zona de inhibición de *P. nalgiovense* y *P. chysogenum* se inactiva con el agregado de penicilinasa lo cual indica que corresponde a penicilina mientras que para el caso de *P. olsonii* no se modifica por la adición de penicilinasa, lo que indica que la actividad antibacteriana no es causada por penicilina.

Conclusiones: El uso de cultivos iniciadores seleccionados no micotoxigénicos y no productores de antibióticos, adaptados al proceso de maduración, es una práctica apropiada a implementar con el fin de controlar poblaciones microbianas indeseables y estandarizar la producción.

JU 191

0640 - INCIDENCIA DE TOXINAS DE *ALTERNARIA* EN JUGOS DE MANZANA

PAVICICH, María Agustina[1] | DE BOEVRE, Marthe[2] | VIDAL, Arnau[2] | DE SAEGER, Sarah[2] | **PATRIARCA, Andrea** [1]

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA [1]; CENTRE OF EXCELLENCE IN MYCOTOXICOLOGY AND PUBLIC HEALTH, DEPARTMENT OF BIOANALYSIS GHENT UNIVERSITY [2]

Introducción y Objetivos: Las manzanas son susceptibles a la contaminación fúngica siendo Alternaria uno de los principales géneros contaminantes. Las especies de *Alternaria* son capaces de producir más de 70 metabolitos, algunos de los cuales son considerados micotoxinas. La exposición a estos se asocia a diversos efectos adversos, como desórdenes precancerosos en la mucosa esofágica, actividad mutagénica y genotóxica, y se ha relacionado con un desorden hematológico en humanos. Cuando los frutos contaminados con Alternaria son incorporados a la línea de producción, existe un riesgo de que estas micotoxinas se encuentren en el producto final. Recientemente se ha establecido un límite para la presencia de ácido tenuazónico (TeA), una micotoxina producida por Alternaria, en alimentos para infantes a base de sorgo y mijo de 500 µ;g/kg, siendo este el primer registro de legislación para toxinas de *Alternaria* a nivel mundial. El objetivo de este trabajo fue estudiar la presencia de 6 micotoxinas producidas por *Alternaria* en jugos de manzana: alternariol (AOH), alternariol monometil éter (AME), TeA, tentoxina (TEN), altenueno (ALT), altertoxina-I (ATX-I).

Materiales y Métodos: Se seleccionaron 13 marcas de jugo de manzana disponibles en comercios de Buenos Aires que fueron extraídas según Walravens et al. (2016). Cada muestra fue homogeneizada, se pesaron 2 g, y se adicionaron con estándares internos en concentraciones de 10 ng/g. Se utilizaron muestras blanco fortificadas con los 6 metabolitos fúngicos para la construcción de curvas de calibración en la matriz. Las muestras y los blancos fueron agitados en vórtex y mantenidos en oscuridad por 15 min. Se adicionaron 10 ml de acetonitrilo (ACN), se agitó por 30 min y se agregaron 2 g de sulfato de magnesio y 0,50 g de sulfato de sodio. Se agitó, se centrifugó y se evaporaron 6 ml del sobrenadante bajo corriente de nitrógeno. El residuo se disolvió en 100 µl del solvente de inyección (agua/ACN, 70:30). Los extractos se transfirieron a un filtro de centrífuga y se centrifugaron a 10000 g durante 10 min. El filtrado se analizó en un UPLC Aquity acoplado a un espectrómetro de masa Xevo TQ-S, con una columna Aquity UPLC High Strength Silica con trifunctional C18 Alkyl phase (HSS T3, 1.8 µm, 2.1 x 100 mm). El instrumento se operó en modo ESI-. Las fases móviles fueron agua:ácido acético (AA) (99:1 v/v) y ACN:AA (99:1 v/v), siguiendo un gradiente.

Resultados: De los 13 jugos, 10 resultaron contaminados con AME entre valores<="" p="">

Conclusiones: Este trabajo permitió detectar por primera vez la presencia de toxinas de *Alternaria* en jugos de manzana comercializados en Argentina, requiriéndose un análisis de riesgo para evaluar la seguridad de los consumidores de estos productos, particularmente cuando son destinados a la población infantil.

JU 192

0498 - LA PREVENCIÓN DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS EN EL SECTOR GASTRONÓMICO DE DOS CORREDORES TURÍSTICOS DE ENTRE RÍOS

PIAGGIO, Mercedes Carolina | CHICHIZOLA, M. Griselda | LOVATTO, Vanesa A. | MUCHIUTTI, Gabriela S. | CÁMERA, Nancy G | STEVEN, María Cecilia | ALMEIDA, María Laura

FACULTAD DE BROMATOLOGÍA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ENTRE RÍOS

Introducción y Objetivos: El presente trabajo tuvo como objetivo generar respuestas a las problemáticas asociadas a las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) en los servicios gastronómicos de ciudades con gran afluencia turística de Entre Ríos, de forma de contribuir a la mejora de la salud pública y al desarrollo económico-productivo de la Provincia

Materiales y Métodos: La metodología implementada involucró una serie de etapas de diagnóstico e intervención, con la finalidad de fortalecer el compromiso en el sector gastronómico, con base en datos obtenidos mediante relevamientos higiénicos-sanitarios y estudios microbiológicos. Las ciudades intervinientes fueron el Municipio de Colón (n= 9 establecimientos) y el de Federación (n=8 establecimientos), en Entre Ríos. Se diseñó un instrumento de recolección de datos (Guía Práctica de Observación) en base a la legislación alimentaria vigente y una encuesta para el personal sobre buenas prácticas en la manipulación de los alimentos y hábitos de los manipuladores. El monitoreo de superficies y de manos del personal se realizó mediante la técnica de hisopado, con hisopos previamente humedecidos con caldo Letheen. Para delimitar el área se utilizó cuadrantes estériles de 10cm x 10cm. En los casos de hisopados sobre superficies irregulares (ej. canillas) se frotó el hisopo en diferentes direcciones por la totalidad de la superficie, expresándose el resultado como UFC/superficie hisopada. El estudio del aire se realizó mediante la técnica de placas de sedimentación. Se obtuvieron un total de 112 muestras para estudio microbiológico, de las cuales el 45,5% (n=51) correspondieron a muestras ambientales, el 34,8% (n=39) a superficies inanimadas (mesadas, azulejos, tablas de cortar y canillas) y el 19% (n=22) a manos del personal de cocina.

Resultados: Las principales falencias detectadas fueron: ausencia de baños exclusivos para el personal, uso de antebaños como vestuarios, empleo de ropa de trabajo oscuro, conocimiento insuficiente sobre las ETAs y formas de contaminación en la cocina; uso de mesadas de madera; escasa filtración y recambio de aceites en freidoras; depósitos con materias primas de distinta naturaleza y no aplicación del principio de rotación. El estudio microbiológico mostró que el 18% de los hisopados de manos presentaron coliformes totales y el 32% *Staphylococcus aureus*. Por otra parte, el 39% y el 4% de las superficies inanimadas mostraron recuentos de aeróbios mesófilos totales y coliformes totales de entre 1,0 Log_{10} y 4,2 Log_{10} UFC/superficie, y entre 0,8 Log10 y 1,4 Log_{10} UFC/superficie respectivamente. Ninguna de las superficies vivas o inanimadas mostró presencia de *Escherichia coli*. En el 5% de las superficies inanimadas se encontró presencia de *Pseudomonas* spp. El recuento de mohos y levaduras en el aire varió entre 1,0 Log_{10} y 2,2 Log_{10} UFC/15min. A cada establecimiento se le confeccionó un informe detallado de los resultados obtenidos en su establecimiento y se organizaron jornadas teórico-prácticas de formación, en donde se incluyeron las propuestas de mejoras específicas. Después de un período de tiempo apropiado, y en base a la intervención en cada establecimiento, se llevaron a cabo nuevos encuentros con los propietarios para verificar el acondicionamiento de las condiciones edilicias y la adecuación a los requisitos higiénicos-sanitarios especifico para cada establecimiento gastronómico.
Conclusiones: Las acciones desarrolladas han fortalecido la toma de conciencia por parte de propietarios y personal de su responsabilidad en la protección de la salud alimentaria de los comensales. La formación continua de los manipuladores de alimentos es fundamental para disminuir la prevalencia de ETAs en Entre Ríos.

JU 193

0840 - EXPLORACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA (STEC) EN FRUTAS Y VERDURAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS EN PUNTOS DE VENTA DEL GRAN MENDOZA

CUERVO, Maria Paula[1] | TORTI, Jerónimo[2] | NARDELLO, Andrea Liv[2] | DI SANTO, Vanessa[3] | OROZCO, Anabella Abril[2] | MONTBRUN, María Del Carmen[1] | RABINO, Daniel[3] | MICHAUT, Marcela Alejandra[4] | **PIZARRO, Marcela Amalia** [2]

ÁREA MICROBIOLOGÍA, DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA, FCMÉDICAS, UNCUYO [1]; ÁREA QUÍMICA BIOLÓGICA. DEPARTAMENTO MORFOFISIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNCUYO [2]; DIRECCIÓN HIGIENE DE LOS ALIMENTOS. MINISTRERIO DE SALUD, ACCION SOCIAL Y DEPORTES. [3]; IHEM (UNCUYO-CONICET) [4]

Introducción y Objetivos: La tendencia mundial a la producción de alimentos listos para consumo ha promovido la necesidad de investigar la inocuidad de los mismos. Las frutas y verduras mínimamente procesadas forman parte de una creciente demanda social de alimentos naturales y menos elaborados. El sistema de vigilancia epidemiológica nacional alerta sobre la ocurrencia en la provincia de Mendoza de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), entre las que destaca el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). El objetivo general de este trabajo fue obtener evidencia de la calidad microbiológica de frutas y verduras mínimamente procesadas, destinadas a consumo directo en ciudades del Gran Mendoza. El específico, conocer la prevalencia de cepas de STEC en ellas.

Materiales y Métodos: El presente trabajo es un estudio de tipo observacional descriptivo longitudinal. Se tomaron un total de 100 muestras en su embalaje original, sin roturas ni pérdidas de producto, con las características organolépticas propias del mismo, entre los meses de setiembre de 2016 y agosto de 2018, en las ciudades de Mendoza, Guaymallén, Las Heras, Godoy Cruz y Luján de Cuyo. Se trató de alimentos mínimamente procesados correspondientes a frutas frescas peladas y cubetadas, flores comestibles y verduras lavadas y cortadas para ensaladas, todas listas para consumo, sin mediar tratamiento previo, salvo el agregado de condimentos. Fueron adquiridas en 8 establecimientos minoristas pertenecientes a 4 diferentes cadenas de supermercados. En dos establecimientos encontramos productos de elaboración propia, mientras que en el resto estos eran suministrados por proveedores externos, de modo que en algunos casos encontramos productos del mismo proveedor en diferentes cadenas de supermercados. La exploración e identificación se realizó según los métodos propuestos en el Manual de Procedimientos "Detección de STEC O157:H7 y no-O157 en alimentos por separación inmunomagnética y PCR", del Servicio de Fisiopatogenia del Instituto Malbrán.

Resultados: Se detectó la presencia de cepas de STEC en 4 de las muestras estudiadas. Correspondían a muestras recolectadas en las ciudades de Mendoza y Godoy Cruz. Tres de las muestras fueron portadoras de los genes que codifican para la producción de las toxinas Stx1 y Stx2 mientras que la restante sólo presentó cepas capaces producir una de las toxinas, STX1.

Conclusiones: Estos resultados evidencian la necesidad de fortalecer el sistema de inspección y vigilancia epidemiológica para asegurar la inocuidad de estos productos desde la huerta hasta el consumidor.

JU 194

0097 - EVALUACIÓN DEL EFECTO COMBINADO DE ÁCIDOS ORGÁNICOS Y ULTRASONIDO SOBRE LA INACTIVACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* INOCULADO EN HAMBURGUESAS DE CARNE VACUNA

REY, María de Los Ángeles [1] | CAP, Mariana[1] | RODRIGUEZ, Silvio David[2] | VAUDAGNA, Sergio Ramón[3] | MOZGOVOJ, Marina Valeria[3]

INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE AGROINDUSTRIA, INTA [1]; INSTITUTO DE BIODIVERSIDAD Y BIOLOGÍA EXPERIMENTAL Y APLICADA. CONICET-FCEN-UBA [2]; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CIA, INTA. CONICET [3]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es el agente causal de diarreas con o sin sangre y, en los casos más severos, Síndrome Urémico Hemolítico. La hamburguesa de carne vacuna ha sido descripta como uno de los principales vehículos de esa bacteria. Para mitigar su presencia se han propuesto el uso de ácidos orgánicos y nuevas tecnologías no térmicas como el tratamiento con ultrasonido, entre otros. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la efectividad de ácidos orgánicos y ultrasonido tanto solos como combinados sobre la letalidad de *E. coli* inoculado en hamburguesas de carne vacuna.

Materiales y Métodos: Las muestras consistieron en 10 g de hamburguesas inoculadas con *E. coli* ATCC 25922 a una concentración final de 6 log UFC/g. Las intervenciones evaluadas fueron: ácido málico (AM 0,5%), ácido caprílico (AC 1%), ácido fumárico (AF 1%), ácido láctico (AL 2%), sonicación (US, 30 kHz - 40 min), AM + US, AC + US, AF + US y AL + US. Se incluyeron muestras sin tratamiento como control. Para el tratamiento con ultrasonido las muestras se sumergieron en un baño de agua con una sonda de ultrasonido. Se controló la temperatura durante la sonicación, evitando que esta aumente por sobre los 40 °C. Las muestras que no fueron sometidas a ultrasonido se colocaron en un baño térmico a la misma temperatura. Luego del procesamiento, se prepararon homogenatos con Agua Peptona 0,1% y se sembraron las diluciones pertinentes en placas de agar Triptona Soya (TSA) y agar Mac Conkey (MAC) que fueron recontadas a las 24 hs de incubación a 37 °C. Se realizaron 3 ensayos independientes, con 3 réplicas por cada una de las condiciones de tratamiento. La letalidad de cada tratamiento se calculó por diferencia en los recuentos en TSA contra el control sin tratar mientras que la injuria se definió como la diferencia entre los recuentos en TSA y MAC para la misma muestra. Para el análisis estadístico se aplicó ANOVA de una vía y test de Tukey como test de comparación de medias.

Resultados: Las reducciones decimales observadas para las muestras tratadas con ácidos pero sin US fueron: 1,1 log UFC/g para AF; 0,9 log UFC/g para AC; 1,5 log UFC/g para AL y 0,5 log UFC/g para AM. Los valores de injuria se mantuvieron en el orden de 0,1 a 0,4 log UFC/g para las muestras con ácidos ogánicos. En las muestras con tratamiento combinado de ácidos y US no se observó incremento en los valores de letalidad como tampoco en los de injuria. De hecho, en las muestras tratadas con US sin agregado de ácidos no se observó efecto bactericida.

Conclusiones: Se concluye que, en las condiciones ensayadas, el tratamiento por ultrasonido no sería efectivo ni tendría efecto sinérgico con los ácidos adicionados. Por el contrario, tanto la letalidad como la injuria obtenidas por efecto de los ácidos orgánicos arrojaron resultados promisorios para ensayos futuros, donde también se planteará la modificación de las condiciones de ultrasonido.

JU 195

0778 - ESTUDIO MICROBIOLÓGICO COMPARATIVO DE CALIDAD DE AGUAS EN MUESTRAS DE RESERVORIOS DOMICILIARIOS Y AGUA ENVASADA DE DISPENSER EN LA PROVINCIA DEL CHACO, ARGENTINA.

SANDI, Alejandro Ariel | LEYES, Salvador | LOPEZ, Diego | LÖSCH, Liliana Silvina

ADMINISTRACION PROVINCIAL DEL AGUA DEL CHACO

Introducción y Objetivos: Las enfermedades derivadas por la ingestión de agua contaminada son muy frecuentes en países en desarrollo. El consumo de agua envasada aumenta cada año en todo el mundo motivado por la preocupación de los consumidores sobre la contaminación del agua de grifo. A pesar que el agua envasada es promovida como segura, diversos estudios evidencian la presencia de bacterias coliformes, mesófilas y *Pseudomonas aeruginosa*. La Provincia del Chaco por Ley Nº 3214/86 adhiere al Código Alimentario Argentino (CAA), donde se fijan estándares de calidad de agua para consumo humano. El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio comparativo de calidad microbiológica de aguas en muestras procedentes de reservorios domiciliarios y agua envasada de dispenser en la provincia del Chaco.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo (2015-2019) en muestras de agua procedentes de reservorios domiciliarios y agua envasada de dispenser, en lugares donde existían en forma simultánea ambas fuentes para consumo humano. Las muestras de agua fueron tomadas en recipientes estériles por personal del laboratorio y se trasladaron refrigeradas para ser inmediatamente procesadas. El análisis microbiológico se realizó acorde a los parámetros establecidos según normativa vigente CAA, siendo estos: coliformes totales, recuento de bacterias mesófilas, presencia de *Escherichia coli* y *P. aeruginosa*.

Resultados: Setenta y un muestras de agua se analizaron en total, de las cuales 43 fueron de agua envasada de dispenser y 28 de reservorios domiciliarios. De las 43 muestras analizadas de agua envasada 32 (74,4%) no cumplieron con alguno/s parámetro/s establecidos en CAA. En 12 (37,5%) se determinó coliformes totales, 31

(96,9%) dieron recuento de bacterias mesófilas >500 UFC/ml y en 7 (21,9%) se observó la presencia de *P. aeruginosa*. En cuanto a las 28 muestras de agua de reservorios domiciliarios analizadas, 7 (25%) no cumplieron con alguno/s parámetro/s establecidos en CAA. En 2 (28,6%) se determinó coliformes totales, 5 (71,4%) dieron recuento de bacterias mesófilas >500 UFC/ml, en 2 (28,6%) se observó la presencia de *P. aeruginosa* y en 1 (14,2%) se determinó la presencia de E. coli.

Conclusiones: Los resultados obtenidos demuestran una mayor proporción de aptitud microbiológica del agua procedente de los reservorios domiciliarios analizados en relación a las de dispenser. Lo hallado infiere que el control del proceso de desinfección, la correcta higiene y manipulación de los bidones por el operador en el recambio de bidones del dispenser y la frecuente sanitización de los mismos, deberían ser variables a tener en cuenta para lograr la aptitud microbiológica del agua envasada para el consumo humano. De la misma manera se evidencia la necesidad del mantenimiento periódico de los reservorios domiciliarios de agua potable. Este trabajo contribuye a poner en discusión la presunta confiabilidad del agua envasada por sobre el agua de red como preferencia de la sociedad para el consumo humano.

JU 196

0115 - PLAN DE FORTALECIMIENTO DE LA INOCUIDAD ALIMENTARIA EN LA PROVINCIA DE MENDOZA

ORDOÑEZ, Alicia [1] | MARTIN, Fanny[1] | LARA, Andrea[2] | SANTIBAÑEZ, Maria Eugenia[1] | RABINO, Daniel[3]

FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS A LA INDUSTRIA. UNCUYO. [1]; UNIDAD DE ENLACE DE LA VICEGOBERNACIÓN [2]; DEPARTAMENTO DE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS [3]

Introducción y Objetivos: el aseguramiento de la inocuidad alimentaria es tema de creciente interés para la salud pública y un derecho inalienable para los consumidores. Para cumplir con un control integral de la inocuidad de los alimentos es necesario contemplar toda la cadena agroalimentaria lo que constituye una responsabilidad conjunta del gobierno, la industria y consumidores.

Materiales y Métodos: se diseñó una metodología de trabajo que comprometiera a todos los actores del sistema realizando foros participativos territoriales dividiendo la provincia en oasis: sur, este, Valle del Uco y Unicipio. Se conformaron mesas de trabajo con seis participantes buscando representantes de gobierno, educación, industria y consumidores. Además se constituyó una mesa de expertos que realizaron exposiciones y ordenaron el desarrollo de los foros. Se trabajó con estrategia de árbol de problemas y se elaboró documento de trabajo. Una vez analizada y sistematizada la información recolectada se convocaron nuevamente a los participantes de los foros para realizar la devolución e incorporar nuevos aportes. El grupo de expertos (CACP) elaboró el anteproyecto de ley.

Resultados: el análisis de los documentos de trabajo demostró que los problemas detectados eran similares entre los oasis a pesar de la distancia y sus particularidades. Se destacó falta de coordinación entre miembros del sistema de salud, superposición de actividades, burocracia, escasa comunicación en y entre organismos de control, baja capacitación formal e informal de la población, de elaboradores y de los agentes de control, desconexión con las universidades y la necesidad de adaptar la legislación vigente a situaciones de contexto como son elaboradores a muy pequeña escala.

Conclusiones: este trabajo participativo de diagnóstico intersectorial permitió la elaboración del anteproyecto de Ley de promoción de un alimento inocuo para ser presentado a la Legislatura.

JU 197

0377 - CARACTERIZACIÓN Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE CEPAS CHILENAS DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* AISLADAS DESDE ALIMENTOS Y CASOS CLÍNICOS ENTRE LOS AÑOS 2008 Y 2017

VIDAL, Maricel [1] | MONTERO, David[2] | DEL CANTO, Felipe[3] | VIDAL, Roberto[3]

LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA AMBIENTAL Y LABORAL. SECRETARÍA REGIONAL MINISTERIAL DE SALUD RM [1]; PROGRAMA DE INMUNOLOGÍA-PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA Y MICOLOGÍA, ICBM, FACULTAD DE MEDICINA, U DE CHILE [2]; PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA Y MICOLOGIA, ICBM, FACULTAD DE MEDICINA, U DE CHILE [3]

Introducción y Objetivos: *L. monocytogenes* es el agente etiológico de listeriosis que ocurre con una alta tasa de mortalidad en grupos susceptibles (embarazadas, niños menores de 5 años y adultos mayores). Se transmite por el consumo de alimentos contaminados, llegando a producir brotes masivos. La genotipificación de cepas con potencial patogénico se ha establecido como una poderosa herramienta epidemiológica. Hasta hace algunos años el uso de electroforesis de campo pulsado correspondía al método de elección, sin embargo, en la actualidad está siendo reemplazado por tecnologías de secuenciación masiva de genomas, que otorgan

mayor poder discriminatorio y la posibilidad de detectar cambios a nivel evolutivo de cepas a nivel mundial. Nuestro objetivo fué conocer la diversidad genética de cepas chilenas de *L. monocytogenes* aisladas desde distintos orígenes entre los años 2008 y 2017.

Materiales y Métodos: En este estudio fueron secuenciadas 71 cepas de *L. monocytogenes* a través de MiniSeq, TruSeq SmallRNA (MAQC HBRR and UHRR). Posteriormente, se realizó el ensamblaje de cada genoma utilizando SPAdes v3.13 y se evaluó la calidad de los ensamblajes utilizando Quast v5.02, en base al largo total, número de contigs y los indicadores N50 y L50. Adicionalmente, 38 cepas chilenas de origen ambiental y clínico, previamente secuenciadas, fueron incluidas en un screening para verificar la presencia y distribución de 46 genes relacionados con virulencia y estrés (LIPI-1, LIPI-3, LIPI-4, invasión, adherencia y sobrevida intracelular), utilizando large-scale blast score ratio (BSR), y establecer las relaciones filogenéticas existentes entre los aislamientos de los distintos orígenes y años. Para ello, se construyó un árbol filogenético con base en polimorfismos de nucleótido único (SNPs) del core genómico (32215 SNPs), utilizando kSNP 3.1.

Resultados: El análisis filogenético agrupó a los 107 aislamientos dentro de 2 linajes (I y II). La mayoría de los aislamientos clínicos y relacionados con brotes de listeriosis (n=63) dentro del linaje I y las cepas aisladas desde alimentos y ambientales (n=44) en el linaje II. La distribución de genes de la isla LIPI-1 se evidenció de manera homogénea en todas las cepas. Los genes de la isla LIPI-3 sólo se encontraron en un grupo de 28 cepas del linaje I, principalmente del serotipo 4b. Los valores de BSR obtenidos para los genes de la isla LIPI-4 (0.12-0.47), sugieren su ausencia en todos los aislados. Genes de internalinas, relacionados con invasión y adherencia se identificaron en cepas de ambos linajes, a excepción de inlF, inlG, aut, vip y ami. Finalmente, genes relacionados con sobrevivencia intracelular tuvieron valores de BSR desde 0,97 a 1, indicando su presencia en las cepas analizadas.

Conclusiones: Las cepas chilenas de *L. monocytogenes* analizadas en este estudio corresponden a linajes genéticos I y II. Los genes de virulencia considerados en este estudio se encuentran distribuidos en las cepas de los 2 linajes genéticos, destacando la presencia de genes de las isla LIPI-1 en todas las cepas y genes de la isla LIPI-3 sólo en cepas de linaje I.

JU 198

0051 - AGRESIVIDAD Y SENSIBILIDAD A LOS FUNGICIDAS TRIAZÓLICOS DE *FUSARIUM GRAMINEARUM SENSU STRICTO* AISLADAS EN ARGENTINA

YERKOVICH, Nadia | BARBERIS, Florencia | CHULZE, Sofía | PALAZZINI, Juan

IMICO-CONICET

Introducción y Objetivos: El cultivo de trigo es afectado por especies dentro del complejo de especies *F. graminearum ss* causando fusariosis de la espiga (FET) con pérdidas en la calidad de grano y contaminación con micotoxinas. El control químico de la fusariosis de la espiga es una estrategia disponible para reducir el riesgo de la enfermedad. Los triazoles son los principales fungicidas utilizados en el control de la FET en los principales países productores de trigo. Tebuconazol y protioconazol son algunos de los fungicidas triazólicos más utilizados, observándose disminución de su eficiencia en los últimos años. Los objetivos fueron: comparar la sensibilidad a tebuconazol y protioconazol de cepas de *F. graminearum ss* aisladas en distintas localidades trigueras de Argentina y evaluar su agresividad en condiciones de campo.

Materiales y Métodos: Se realizaron aislamientos de las cepas en las localidades: Marcos Juárez y Corral de Bustos (Córdoba), Carlos Pellegrini (Santa Fe) y Pergamino (Buenos Aires) en la campaña epifítica 2012/13. El ensayo se llevó a cabo en placas de Petri de 15 cm de diámetro que contenían el medio cultivo agar papa glucosado suplementado con los fungicidas en concentraciones de 0,25; 0,5 y 1 mg/Kg (ppm). Las placas fueron inoculadas en el centro con un disco de 5 mm de *F. graminearum ss* en activo crecimiento, se incubaron a 25 °C en oscuridad por 3 días y se calculó la DL50. La agresividad de las cepas se evalúo mediante su inoculación sobre las espigas en antesis y el desarrollo de la FET se evaluó a los 21 días.

Resultados: El análisis de las DL50 demostró que el fungicida que se requería en niveles mayores para inhibir el crecimiento fue el tebuconazol seguido por protioconazol y luego por la mezcla de ambos. Las cepas aisladas en la localidad de Carlos Pellegrini mostraron un promedio mayor de DL50 para los tres fungicidas (teb; 8,61 ppm, prot; 11,26 y teb/prot; 9,71). La DL50 menor fue observada en las cepas aisladas en la localidad de Corral de Bustos (Teb; 0,77 ppm, prot; 0,7 ppm y teb/prot; 0,77 ppm) que incluyó 25 cepas con DL50 menores a 0,8 ppm. Se evaluaron 10 cepas en ensayos a campo sobre espigas de trigo, observándose 100% de incidencia de FET y una severidad entre 33% y 63%. Las cepas aisladas en Pergamino mostraron más agresividad (47,78 %) que aquellas aisladas en Corral de Bustos (43,36 %).

Conclusiones: En el presente estudio se demostró que la mezcla de protioconazol y tebuconazol fue la más eficaz en comparación con los fungicidas por separado. Las cepas de *F. graminearum ss* evaluadas demostraron poseer un fenotipo de resistencia intermedio con respecto a la DL50. No se observó correlación entre la tolerancia a los fungicidas y la agresividad. Los estudios de susceptibilidad a los fungicidas y agresividad de las poblaciones de patógenos son importantes para monitorear aparición de resistencia y apoyar los planes de mejoramiento en la búsqueda de cultivares resistentes a la FET.

JU 199

0114 - EVALUACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA A CIPROFLOXACINA Y ENROFLOXACINA DE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* AISLADOS EN PLANTA DE FAENA

SCHREYER, Mariana E.[1] | OLIVERO, Carolina R.[2] | ROSSLER, Eugenia[2] | SEQUEIRA, Gabriel J.[1] | SIGNORINI, Marcelo[3] | **ZBRUN, María Virginia** [2]

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS, DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA, FCV-UNL [1]; ICIVET-LITORAL (UNL-CONICET) / FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]; CONICET, EEA INTA RAFAELA [3]

Introducción y Objetivos: Desde el año 2001, la Organización Mundial de la Salud considera a *Campylobacter jejuni* una de las principales causas de infecciones entéricas zoonóticas provocadas por el consumo de alimentos en países desarrollados y subdesarrollados. Asimismo, la carne de pollo es considerada el principal factor de riesgo para la incidencia de la *Campylobacter*iosis humana debido a que el pollo es el principal reservorio de esta bacteria. Por otro lado, el aumento global de la resistencia a los antimicrobianos (RAM) constituye una importante amenaza para la salud humana y animal, pone en peligro la actual medicina humana y veterinaria e impacta sobre la seguridad de nuestros alimentos y el ambiente. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la RAM de *C. jejuni* aislados desde una planta de faena a 2 fluorquinolonas, una de uso principalmente en medicina veterinaria (enrofloxacina) y otra de uso en medicina humana (ciprofloxacina). Además, se evaluaron los mecanismos moleculares que explican la resistencia a dichos ATM.

Materiales y Métodos: Para evaluar fenotípicamente la resistencia antimicrobiana (ATM) de *C. jejuni* se utilizó el método de dilución en agar según el manual de procedimientos "Sensibilidad a los antimicrobianos en *Campylobacter* spp" desarrollado por Lucero y Galas (2010). Los antibióticos estudiados, y sus rangos fueron: ciprofloxacina (CIP, 0,062-16 µg/ml) y enrofloxacina (ENR, 0,031-4 µg/ml). El estudio de los mecanismos de resistencia a dichos ATM se llevó a cabo utilizando la técnica de PCR con el objeto de: 1- detectar genes que codifican la bomba de eflujo cmeABC que le permite expulsar dichos ATM fuera de la célula, 2- identificar una mutación puntual en el gen GyrA que codifica para la ADN girasa (sitio target de los ATM estudiados).

Resultados: Se evaluaron 42 *C. jejuni* de los cuales una alta proporción (76%) presentó resistencia a ambos ATM, 19% fueron sensibles y solo un 5% presentó resistencia solo a ciprofloxacina. Al estudiar los mecanismos de resistencia se detectó la presencia de la bomba de eflujo cmeABC en el 52% de los aislamientos y todos los microorganismos presentaron la mutación puntual en el gen GyrA.

Conclusiones: Estos resultados demuestran un alto porcentaje de los aislamientos de *C. jejuni* resistentes a los ATM estudiados así como también la presencia de los mecanismos que le confieren dicha propiedad. Es por ello que resulta imprescindible diseñar e implementar diferentes estrategias en la producción primaria de alimentos que permitan mitigar los efectos de la RAM colaborando con la promoción y protección de la salud pública.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

JU 200

0717 - CUANTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD FERULOIL ESTERASA BACTERIANA MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA: PUESTA A PUNTO Y CARACTERIZACIÓN ENZIMÁTICA EN CEPAS DE LACTOBACILOS

ANDRADA, Lidia Estefania[1] | **LÓPEZ RIZO, María Carolina** [2] | ABEIJÓN MUKDSI, María Claudia[2] | MEDINA, Roxana Beatriz[1]

CERELA-CONICET / FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA. UNT [1]; CERELA-CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Las feruloil esterasas (FE) son enzimas de creciente interés biotecnológico dada sus variadas aplicaciones. Las técnicas para el estudio de las FE de bacterias lácticas (BL), de especial relevancia en el desarrollo de probióticos e inoculantes para ensilajes, abarcan la espectrofotometría de nitrofenil derivados, la cual requiere que dichas enzimas se encuentren purificadas [Fritsch y col, 2017], y la cromatografía líquida de alta precisión [Abeijón y col, 2011]; estas metodologías son laboriosas y relativamente costosas. Por tanto, el objetivo de este trabajo es describir un protocolo novedoso de cuantificación de Actividad FE (AFE) aplicable para suspensiones celulares de BL; seguidamente, evaluar la fiabilidad de dicho método para caracterizar la AFE en diferentes condiciones de temperatura y pH.

Materiales y Métodos: Suspensiones de células bacterianas en buffer MOPS 100 mM pH 7 fueron incubadas a 37°C en proporción 1:2 con una solución de metil ferulato 100 µM en dicho buffer. Tras 15 min, la mezcla de

reacción fue sometida a centrifugación y la absorbancia de la fracción superior del sobrenadante se midió a 340 nm. Para la cuantificación se empleó una curva de calibración del sustrato (0-83 µM) expresando los resultados en Unidades (U) de Actividad Enzimática Específica, equivalentes a nm de metil ferulato consumidos/min/g de células. Además, se evaluó la técnica a 18°C, así como a pH 4 y 5 (37°C, acidificación con ácido láctico). Los valores obtenidos se compararon con la cuantificación de metil ferulato mediante HPLC y con la estimación por diámetro del halo de hidrólisis en medio MRS agar con la adición de etil ferulato (1 g/L). Los estudios estadísticos se realizaron mediante ANOVA y las medias fueron comparadas mediante el Test de Tukey.

Resultados: El sustrato fue estable en todas las condiciones estudiadas y los valores obtenidos son consistentes (Factor cepa=p<0,0001), variando de 35 U (L. spp aislada de silos de maíz) a 698 U (*L. johnsonii* CRL1231 a pH 7 y 37°C). Los resultados son coincidentes con los obtenidos por los otros métodos de cuantificación mencionados. Las BL de origen animal y humano estudiadas poseen una AFE de 1,5 a 20 veces mayor a la detectada en las cepas de origen vegetal. En la mayoría de los casos, las mayores U se encontraron a pH 7 y 37°C; sólo 4 cepas, aisladas de fuentes vegetales, presentaron una mayor AFE a pH 4 y 5, o a 18°C.

Conclusiones: Se presenta un método consistente, rápido y de bajo costo para la cuantificación de la AFE, y que asimismo permite la caracterización de las condiciones óptimas de las enzimasa en estudio. Los resultados sustentan la potencial aplicación de BL de origen intestinal caprino como inoculantes fibrolíticos para ensilajes; se destacan especialmente las especies *L. johnsonii, L. taiwanensis* y *L. fermentum* por su gran capacidad hidrolítica, la cual se mantiene a temperatura y pH bajos.

JU 201

0969 - ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE SOBRENADANTES DE BACTERIAS AISLADAS DE ALIMENTOS PARA AVES DE CORRAL

QUIROGA, María[1] | GRANDE, Sonia[1] | **ARGAÑARAZ MARTINEZ, Fernando Eloy** [1] | BABOT, Jaime[2] | PEREZ CHAIA, Adriana[2]

INSTITUTO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE BIOQUÍMICA, QUÍMICA Y FARMACIA. UNT [1]; CERELA-CONICET [2]

Introducción y Objetivos: La soja es la principal fuente de proteínas en las dietas de aves de corral. En el proceso de degradación proteica se liberan péptidos, algunos muy pequeños de entre 4 y 20 aminoácidos, que podrían presentar importante actividad biológica (propiedades antitrombóticas, antioxidantes, antibacterianas, etc.). El objetivo de este trabajo es estudiar la actividad antimicrobiana de los péptidos liberados en la degradación de SPI (extracto proteico de soja) por actividad proteolítica de bacterias lácticas (BL) y *Bacillus* aislados de componentes del alimento de aves frente a tres *Salmonellas* patógenas de aves y *E. coli*.

Materiales y Métodos: Se seleccionaron 4 *Bacillus* que mostraron 59 a 71% de degradación proteica y 11 BL (5 *Enterococcus*, 3 *Lactobacillus* y 3 *Pediococcus*) que presentaron 36 a 63% de degradación. Sobrenadantes de cultivo (SC) de 12 h de incubación en medio SPI caldo se esterilizaron por filtración con membranas de 0,2 µm, cada uno se inoculó con las enterobacterias y se incubó a 37°C hasta que cultivos controles de cada patógeno en medio SPI caldo alcanzó la fase exponencial tardía. Se realizó recuento inicial y final de cada patógeno cultivado en SPI caldo (control) y en SC de cepas proteolíticas.

Resultados: Los recuentos de *E. coli* ATCC 35695 en la última fase de crecimiento exponencial fueron significativamente menores en SC de *E. italicus* LET 302, *E. faecium* LET 304, LET 305 y LET 306, *P. acidilactici* LET 502 y *B. subtilis* LET 602, que en el control. No se observó inhibición significativa en los SC de otras cepas de BL o *Bacillus*. Los serotipos de *Salmonella* evidenciaron una inhibición significativa en los SC de *E. italicus* LET 302, *E. faecium* LET 306 y *B. licheniformis* LET 603 y LET 604. Ambas cepas de *Enterococcus* mostraron capacidad para reducir significativamente el crecimiento de *S. gallinarum*, pero no fueron efectivas contra otros serotipos de *Salmonella*. Los productos de crecimiento de *B. licheniformis* LET 603 y LET 604 en caldo SPI inhibieron el crecimiento de *S. gallinarum*, *S. enteritidis* y *S. thyphimurium*. Se encontró correlación positiva en la mayoría de las cepas de BL entre el grado de hidrólisis de SPI y la inhibición de *E. coli* ATCC 35695, una cepa no patógena resistente a estreptomicina. Por el contrario, entre las cepas de *Bacillus*, solo *B. subtilis*LET 602 redujo los recuentos de *E. coli*. En relación con el género *Salmonella*, solo las cepas de *B. licheniformis* inhibieron en diferente grado el crecimiento de todos los serotipos estudiados, mientras que *B. cereus* fue eficaz solo contra *S. gallinarum*.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el control de *Salmonella* requiere la presencia de péptidos específicos producidos por especies bacterianas particulares. Los resultados de las actividades antimicrobianas estuvieron de acuerdo con la baja contaminación con *E. coli* y la ausencia de *Salmonella* observada en ingredientes y alimentos usados en nuestro estudio para el aislamiento de las cepas.

Presentación de pósters CAMA 3
Viernes 27 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

VI 165
0734 - DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD A TEMPERATURA Y PH FISIOLÓGICO DE ENZIMAS FIBRINOLÍTICAS SECRETADAS POR *AGARICOMICETES* NATIVOS DE MISIONES

ACOSTA, Gabriela Alejandra [1] | SVIERCZ, Franco Agustin[1] | MIÑO, Maria Laura[1] | BENITEZ, Silvana Florencia[1] | FONSECA, Maria Isabel[1] | FARIÑA, Julia Ines[2] | ZAPATA, Pedro Dario[1]

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR, INBIOMIS, FCEQYN-UNAM [1]; LABORATORIO DE MICODIVERSIDAD & MICOPROSPECCIÓN. PROIMI-CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Las enfermedades cardiovasculares se han convertido en una de las principales causas de muerte a nivel mundial. El mal funcionamiento del sistema plasminógeno/plasmina, encargado de disolver los coágulos de sangre, genera la acumulación de fibrina que puede llevar a trombosis, causando enfermedades cardiovasculares. Se han reportado diversos organismos capaces de producir enzimas fibrinolíticas con potencial aplicación en terapia trombolítica. Nuestro equipo de trabajo identificó 3 cepas de *Agaricomicetes* nativos de Misiones con capacidad de secretar enzimas fibrinolíticas, siendo el objetivo del presente trabajo determinar la estabilidad en función del tiempo, a temperatura y pH fisiológico, de las enzimas fibrinolíticas secretadas por dichas cepas.

Materiales y Métodos: Para determinar la estabilidad enzimática en función del tiempo, a pH 7,4 y 37 °C, de los sobrenadantes obtenidos del cultivo en medio líquido de *Perenniporia martius* LBM 224, *Schizophyllum commune* LBM 026 y *Schizophyllum commune* LBM 223, se activaron las cepas en medio sólido conteniendo (en g/L): extracto de malta, 12,7 y agar, 17, durante 5 días a 28 °C. A partir de las placas activas se cortó un taco de 7 mm Ø cubierto de micelio joven de cada cepa y se inoculó en 20 mL de medio líquido conteniendo (en g/L): glucosa, 35; peptona de soja, 5; extracto de carne, 5; NaCl, 2; KH_2PO_4, 0,5 y $MgSO_4 \bullet 7H_2O$, 0,5. Los cultivos se incubaron a 28 °C durante 7 días para *S. commune* LBM 026 y S. commune LBM 223, y 14 días para *P. martius* LBM 224. El sobrenadante de cultivo se separó del micelio por centrifugación a 6.000 x g durante 10 min. Se tomaron alícuotas de 500 µL de sobrenadante a las cuales se adicionaron 500 µL de buffer Tris-HCl 50 mM pH 7,4, se incubaron a 37 °C durante 5 días y se midió la actividad enzimática residual periódicamente entre las 24 y 168 h. La actividad fibrinolítica se reveló mediante el método de placas de fibrina de Astrup & Mullertz (1952).

Resultados: A las 24 h de incubación, la actividad fibrinolítica del sobrenadante de *P. martius* LBM 224 mostró un incremento del 13% con respecto al tiempo cero de incubación, manteniendo el 50% de actividad a las 48 h, y el 16% a las 120 h. Para sobrenadantes de *S. commune* LBM 026 y *S. commune* LBM 223 se observó una estabilidad de la actividad fibrinolítica del 70% a las 24 h, manteniendo el 50% de dicha actividad hasta las 120 h para *S. commune* LBM 223 y hasta las 72 h para *S. commune* LBM 026. A las 168 h de incubación, los sobrenadantes de *S. commune* LBM 223 y LBM 026 presentaron una actividad del 27 y 16%, respectivamente, mientras que *P. martius* LBM 224 no presentó actividad.

Conclusiones: La cepa con mayor estabilidad de la actividad fibrinolítica fue *S. commune* LBM 223, motivo por el cual ha sido seleccionada para continuar estudiando su potencial como productora de enzimas fibrinolíticas.

VI 166
0754 - OPTIMIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO DE AGARICOMICETES NATIVOS DE MISIONES PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS FIBRINOLÍTICAS

ACOSTA, Gabriela Alejandra [1] | MIÑO, Maria Laura[1] | SVIERCZ, Franco Agustin[1] | BENITEZ, Silvana Florencia[1] | FONSECA, Maria Isabel[1] | FARIÑA, Julia Ines[2] | ZAPATA, Pedro Dario[1]

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR, INBIOMIS, FCEQYN-UNAM [1]; LABORATORIO DE MICODIVERSIDAD & MICOPROSPECCIÓN. PROIMI-CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Las enzimas fibrinolíticas producidas por diversos organismos han cobrado gran importancia para el tratamiento de algunas enfermedades del sistema cardiovascular, principalmente aquellas

relacionadas al mal funcionamiento del sistema fibrinolítico natural (plasminógeno/plasmina), encargado de disolver coágulos de sangre en condiciones fisiológicas normales. Se ha observado que algunos Agaricomicetes secretan al medio extracelular enzimas con actividad fibrinolítica, lo cual ofrece una ventaja a la hora de su recuperación y purificación. Nuestro grupo de trabajo ha evaluado la capacidad de producir dichas enzimas en 35 cepas de Agaricomicetes nativas de Misiones, presentando actividad tres de ellas: S*chizophyllum commune* LBM 223, *Schizophyllum commune* LBM 026 y *Perenniporia martius* LBM 224. Las mismas fueron seleccionadas con el fin de optimizar los parámetros de cultivo para la producción enzimática de interés. El objetivo de este trabajo fue reducir el número de componentes del medio de cultivo para facilitar la purificación de las enzimas fibrinolíticas y aminorar los costos de producción a gran escala.

Materiales y Métodos: Se utilizó el método de un factor a la vez y se probaron tres fuentes de nitrógeno (peptona de carne, peptona de soja y nitrato de sodio) y una fuente de carbono (glucosa). Para todos los medios de cultivo se utilizó una solución con trazas de sales (en g/L): NaCl 2; KH_2PO_4 0,5 y $MgSO_4 \bullet 7H_2O$ 0,5. Se inoculó un taco de 7 mm Ø cubierto de micelio joven en 20 mL de medio de cultivo líquido y se incubó a 28 °C. El sobrenadante se separó del micelio por centrifugación a 6000 x g por 10 min. Se determinó la actividad fibrinolítica a los 7, 14 y 21 días mediante el método de placas de fibrina de Astrup & Mullertz (1952). Los resultados se analizaron con Statgraphics plus de Windows 5.1, Prisma 5.0. (ANOVA simple).

Resultados: Se compararon los halos de degradación de fibrina de las 3 cepas para los días ensayados, y se observó que *P. martius* LBM 224 presentó halos de lisis significativamente mayores (49,86 ± 1,19 mm^2) ($P<0,05$) en el medio 1 (peptona de carne 5 g/L, glucosa 35 g/L) a los 21 días de cultivo. Para *S. commune* LBM 223 la mayor actividad se registró a los 7 días de cultivo en medio 2 (peptona de soja 5 g/L, glucosa 35 g/L) y medio control (peptona de carne, peptona de soja 5 g/L, glucosa 35 g/L), con halos de 39,49 ± 2,89 mm^2 y 40,91 ± 1,40 mm^2 respectivamente, sin presentar diferencias significativas entre ambos ($P\geq0,05$). En el caso de *S. commune* LBM 026, el medio que produjo mayores halos (39,93 ± 4,35 mm^2) fue el medio control a los 14 días de cultivo.

Conclusiones: A partir de estas observaciones, se seleccionaron el medio 1 para *P. martius* LBM 224 y el medio 2 para *S. commune* LBM 223, por ser los más aptos para la producción de enzimas fibrinolíticas, con menores concentraciones de peptona con respecto al medio control, facilitando así la purificación de la enzima de interés y reduciendo los costos de producción a gran escala.

CAMA - Metabolitos microbianos

VI 167

0334 - IMPACTO FUNCIONAL DEL EXOPOLISACÁRIDO (EPS) PRODUCIDO POR LA CEPA AUTÓCTONA *LACTOBACILLUS FERMENTUM* LF2: ENSAYOS *IN VIVO* E *IN VITRO*

ROJAS, Ma. Florencia | CORREA OLIVAR, Gabriela | ALE, Elisa | **REINHEIMER, Jorge A.** | BINETTI, Ana

INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL (INLAIN, UNL-CONICET)

Introducción y Objetivos: *L. fermentum Lf2* es una cepa autóctona capaz de producir 2 g/L de un extracto de exopolisacáridos (EPS) bajo condiciones optimizadas, rendimiento significativamente mayor al informado para otras bacterias lácticas. Está compuesto principalmente por un heteropolisacárido ($8,8x10^4$ Da) formado por glucosa y galactosa, y un ß-glucano ($1,23x10^6$ Da). El objetivo del presente trabajo fue estudiar, a través de ensayos *in vitro* e *in vivo*, las propiedades funcionales de este extracto.

Materiales y Métodos: El EPS se extrajo a partir del sobrenadante mediante precipitación alcohólica. Para los ensayos *in vitro* se utilizó la línea celular THP-1 y células mononucleares de sangre periférica. Las citoquinas e IgA se midieron por ELISA. Para los ensayos *in vivo* se utilizaron ratones BALB/c, a los que se les administró cada tratamiento por intubación gástrica (300 µl/ratón). Se cuantificaron los ácidos grasos de cadena corta por HPLC y los distintos grupos microbianos por qPCR (ambas determinaciones a partir de heces).

Resultados: El primer ensayo *in vitro* consistió en estudiar el efecto del extracto sobre la línea celular THP-1, utilizando 60 µg/mL del extracto de EPS crudo (0,9% de proteínas) y 12,6 µg/mL de extracto purificado (se recupera un 21% de EPS luego de la purificación). Como control positivo se incluyó LPS (0,5 µg/mL) y como negativo, células sin tratar. El extracto purificado disparó los niveles de la citoquina TNF-alfa, alcanzando niveles similares al control positivo y superando los niveles determinados para el control negativo y el EPS crudo ($p< 0,05$). Con respecto a IL-6, en todos los casos los niveles fueron significativamente menores a los obtenidos para el control LPS. Por otro lado, ambas formas de EPS presentaron niveles significativamente más altos de la citoquina reguladora IL10. El segundo ensayo *in vitro* consistió en estudiar el efecto del ß-glucano sobre células mononucleares de sangre periférica, el cual demostró prevenir efectos proinflamatorios desencadenados por LPS, ya que aquellas células que habían sido expuestas por 24 h al ß-glucano (100 µg/mL) y a las que luego se las lavó para enfrentarlas a LPS, presentaron bajos niveles de TNF-alfa, sugiriendo un rol inmunomodulador. Por otro lado, ensayos *in vivo*(ratones BALB/c) evidenciaron diversos efectos beneficiosos, demostrándose que el extracto de EPS, cuando se adiciona a matrices lácteas (yogur o leche) es capaz de prevenir una infección por *Salmonella* serovar Typhimurium en una concentración de 600 mg/L, además de

aumentar los niveles de IgA en fluido intestinal a y reducir los niveles de IL-6 en intestino delgado, en una concentración de 300 mg/L. Asimismo, este extracto (600 mg/L) en yogur fue capaz de producir un aumento significativo de ácidos grasos de cadena corta en heces (por HPLC), específicamente de los ácidos acético y butírico, asociados a un rol prebiótico. Este efecto se vio relacionado a un aumento del *cluster Clostridium coccoides* productor de estos ácidos, determinado por qPCR. Cuando se combinó este extracto con la cepa probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 (5 x 10^8 UFC/mL), se observó un efecto bifidogénico durante el tratamiento que no se apreció para aquellos ratones tratados solo con la bifidobacteria.

Conclusiones: Todos estos estudios en conjunto señalan el potencial de este EPS para otorgar diversos roles funcionales cuando se lo utiliza como ingrediente alimentario, en concentraciones factibles de aplicar en la industria y posibles de obtener teniendo en cuenta su relativamente elevado rendimiento.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

VI 168

0455 - EMPLEO DE CEPAS PROBIÓTICAS DE *LACTOBACILLUS* PARA INCREMENTAR EL POTENCIAL FUNCIONAL EN UN YOGUR FORTIFICADO CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS

BOCKOR, Sabrina Sol [1] | FINA MARTIN, Joaquina[1] | PALOMINO, María Mercedes[1] | GORDILLO, Tania[1] | PALUMBO, Clara Miranda[1] | RUZAL, Sandra[1] | PEGA, Juan Franco[2] | ALLIEVI, Mariana Allievi[1]

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET [1]; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CIA, INTA. CONICET [2]

Introducción y Objetivos: En Argentina, el yogur es el alimento elegido preferentemente para vehiculizar cepas probióticas a los consumidores. Para alcanzar los beneficios en la salud una cantidad mínima de probióticos y aunque no son necesarios en el desarrollo, se agregan desde el inicio. Hemos optimizado un modelo experimental basado en prototipos de yogur a escala miniatura donde se co-cultivan cepas iniciadoras y probióticas para evaluar supervivencia y modificaciones en las cepas de *Lactobacillus* empleadas. Los ácidos grasos omega-3 de cadena larga de origen marino (EPA y DHA), son micronutrientes con evidencia científica para prevención o tratamiento de diversas patologías. No obstante, no existen datos sobre las interacciones entre ellos y las bacterias probióticas en alimentos funcionales. En este trabajo se buscó evaluar la supervivencia de cepas probióticas de *Lactobacillus* (*L.*) durante el almacenamiento del alimento y el efecto de EPA y DHA sobre la supervivencia de cepas probióticas en el yogur, determinando la concentración máxima que puede ser utilizada sin descenso de valores requeridos. Adicionalmente, se analizaron características de la envoltura bacteriana, en particular la proteína S-layer, en el crecimiento en el medio yogur, debido a que la envoltura bacteriana es el primer sensor ambiental.

Materiales y Métodos: Para la elaboración de los yogures, se inoculó con 1x10^6 UFC/ml de cada cultivo iniciador y de cada uno de los probióticos *L. kefiri*, *L. casei* y *L. acidophilus* en medio leche (4 hs a 42°C). La supervivencia de cepas probióticas de *Lactobacillus* fue determinada mediante técnica de recuento de células viables en placa de medios diferenciales: M17 + lactosa 0,5% (*Streptococcus thermophilus*), MRS ácido (pH 5,3) (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), FMRS (medio base MRS) + maltosa 4% (*L. acidophilus y kefiri*), manitol 4% (*L. casei*).

Resultados: Como resultado, los cultivos iniciadores no se vieron afectados por la presencia de los probióticos. Los valores de sobrevida de *L. kefiri* y casei fueron cercanos a 1x10^7 UFC/ml, dosis recomendada para ingerir probióticos y no descendió al día 28. A diferencia de lo ocurrido *L. kefiri*, *L. acidophilus*sufrió un descenso marcado de la supervivencia. Mediante SDS-PAGE de preparaciones de proteínas S-layer de *L. acidophilus* y *L. kefiri* crecidas en medio MRS y en los prototipos de yogur, se observó que la proteína S-layer de *L. acidophilus* corresponde a la Slp X, sintetizada en condiciones de estrés, lo que evidenciaría que el microorganismo utiliza sistema de recambio de S-layer para adaptarse a un medio estresante. Tanto *L. casei* como *L. kefiri* sobrevivieron al agregado de aceite hasta 10000 mg/ 200 g de yogur.

Conclusiones: Con este trabajo se generaron prototipos de yogur en los que se pudo evaluar componentes de la envoltura partícipes en la adaptación. Además, se elaboraron alimentos funcionales conteniendo probióticos y omega-3 en las concentraciones preventivas recomendadas.

VI 169

0750 - *BACILLUS SUBTILIS*, UN PROBIÓTICO NOVEDOSO QUE MODULA LA RESPUESTA INMUNE Y PARÁMETROS METABÓLICOS. ESTUDIO PRECLÍNICO EN RATÓN

ARGAÑARAZ, Federico [1] | MARQUEZ, Maria Antonela[2] | BAUMAN, Carlos[1] | GAUFFIN, Paola[2] | GRAU, Roberto[1]

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO [1]; CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [2]

Introducción y Objetivos: *Bacillus subtilis* (Bs) es una bacteria Gram-positiva formadora de esporas y con propiedades probióticas demostradas. El objetivo de este trabajo fue determinar si la administración oral de Bs mejora los parámetros inmunológicos y metabólicos en ratones alimentados con diferentes dietas; estándar o convencional (SD) y rica en grasa (FD).

Materiales y Métodos: Se utilizaron esporas de la cepa de Bs DG101 obtenidas por fermentación aeróbica en medio de cultivo SM. Las esporas fueron administradas diariamente por gavage a ratones C57BL/6 de 5 semanas de edad en una dosis de $1x10^8$ UFC/día/ratón. Los ratones fueron alimentados ad libitum con SD y FD durante 7 semanas. Los mismos fueron divididos en cuatro grupos: a y b) ratones alimentados con SD o FD, ambas dietas suplementadas con esporas de Bs DG101, c y d) ratones alimentados con SD y FD sin suplementar con Bs. Al finalizar el tratamiento, se realizaron las siguientes determinaciones en plasma: niveles de leptina, citoquinas (TNF-α, MCP-1, IL-6, IL-10), triglicéridos, colesterol total y glucosa. Se determinó además, peso corporal y el índice de adiposidad. Como prueba de seguridad se evaluó translocación bacteriana.

Resultados: El grupo FD mostró una tendencia a aumentar los niveles de TNF-α y MCP-1, con una reducción en los niveles de IL-6 e IL-10. El aumento de peso en el grupo FD fue 19,4% mayor comparado con los animales del grupo SD. Los animales alimentados con FD-Bs mostraron una disminución del 12,6% en su peso corporal en comparación con el grupo FD. El índice de adiposidad del grupo alimentado con FD se incrementó en un 51% comparado con el grupo control SD. No obstante, el índice de adiposidad del grupo SD-Bs fue significativamente menor (18,2%) en comparación con los animales del grupo SD. No se observaron diferencias significativas en los valores de triglicéridos en ninguno de los grupos ensayados. Los niveles de colesterol en el grupo FD mostraron un aumento del 54% comparado con los de animales del grupo SD. Los ratones alimentados con FD-Bs restablecieron el colesterol a valores normales, similares a los del grupo SD. Los valores de glucosa del grupo FD se duplicaron respecto a los del grupo SD. La administración de Bs DG101 al grupo FD disminuyó el nivel de glucosa en aproximadamente 60% comparado al grupo FD. No se observó translocación bacteriana en hígado y bazo.

Conclusiones: En conclusión, los resultados indican que Bs DG101 modula distintos parámetros bioquímicos, metabólicos e inmunológicos, que pueden contribuir a mejorar la performance de la inmunidad innata y la salud del hospedador; todo lo cual torna a Bs DG101 en un potencial organismo probiótico para su consumo en humanos.

VI 170

0104 - ENZIMAS LIPOLÍTICAS EN LACTOBACILOS EMPLEADOS EN FERMENTACIONES DE SOJA

AVILA HAEL, Graciela Natividad [1] | NACCHIO, Bárbara Luciana[1] | MEDINA, Roxana Beatriz[2] | GARRO, Marisa Selva[1]

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [1]; CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)/FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA. UNT [2]

Introducción y Objetivos: Las enzimas lipolíticas (lipasas y esterasas) son hidrolasas que rompen el enlace éster entre un ácido graso (AG) y el glicerol de una molécula de triglicérido, produciendo AG libres, mono y diacilgliceridos. Las bacterias lácticas (BL) son débilmente lipolíticas, en comparación con otras bacterias y hongos, sin embargo, pueden contribuir al desarrollo de "flavor" en algunas matrices alimenticias. La capacidad de los cultivos bacterianos para hidrolizar triglicéridos es importante en el desarrollo de aroma y sabor debido a la liberación de AG volátiles y a algunas esterificaciones subsecuentes que estos ácidos pueden sufrir. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la actividad esterasas y lipasas de *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* CRL 207, *L. fermentum* CRL 251 y *L. zeae* CRL 981 para su posible uso como cultivos productores de flavor en una matriz alimenticia a base de soja.

Materiales y Métodos: Las cepas fueron incubadas en caldo MRS a 37°C por 16 h, se centrifugaron y el pellet se rompió en prensa, obteniendo un extracto libre de células. La actividad esterasa se cuantificó usando como sustratos alfa-naftil (NA) derivados de AG: alfa-NA acetato (C2), alfa-NA propionato (C3), alfa-NA butirato (C4), alfa-NA caprilato (C8), alfa-NA caprato (C10) y alfa-NA laurato (C12). Posteriormente se realizó una detección post-electroforética con revelado por actividad con alfa-NA acetato (C2). Para la actividad lipasa se empleó el método del *p*-nitrofenol palmitato (C16).

Resultados: Los resultados mostraron actividad esterasa para todos los sustratos evaluados en las tres cepas, presentando mayor actividad enzimática CRL 207 en C2 (0,22 U/mg), C3 (0,36 U/mg), C4 (0,31 U/mg); C8 (0,27 U/mg); C10 (0,40 U/mg) y C12 (0,22 U/mg). Por su parte, las cepas CRL 251 y 981 presentaron la menor actividad enzimática en C12 (0,09 y 0,08 U/mg). El zimograma electroforético mostró entre 2 y 3 bandas de actividad esterasa en C2 para cada cepa, con mayor intensidad de bandas en CRL 207. La actividad lipasa para el sustrato *p*-nitrofenol palmitato (C16) solo se presentó en la cepa CRL 207 con una actividad de 1,13 U/mg.

Conclusiones: Los datos de cuantificación de la actividad esterasa indicaron que las cepas de bacterias lácticas evaluadas poseen actividad esterasa intracelular y los estudios de detección pos electroforética de actividad esterasa evidenciaron la presencia de 1 a 3 enzimas diferentes en cada cepa para C2. Por su parte la actividad lipasa solo pudo determinarse en CRL 207 evidenciando la capacidad de este lactobacilo para hidrolizar ácidos grasos de cadena larga. Los resultados de esta experiencia demuestran que las cepas estudiadas presentan el sistema enzimático necesario para poder ser usadas en una matriz alimenticia de soja ya que pueden realizar la hidrólisis de triglicéridos para liberar AG que contribuyen al "flavor".

VI 171

0693 - ALMACENAMIENTO DE ALIMENTOS DE SOJA FERMENTADOS CON BACTERIAS LÁCTICAS: ESTUDIO DE PROTEÍNAS Y DIACETILO - ACETOINA

NACCHIO, Bárbara Luciana[1] | **AVILA HAEL, Graciela Natividad** [1] | MEDINA, Roxana Beatriz[2] | GARRO, Marisa Selva[1]

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [1]; CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)/FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA. UNT [2]

Introducción y Objetivos: Estudiar la vida de estante de un alimento indica cual es el tiempo de vida que ese producto estará en óptimas condiciones sin que sus propiedades nutricionales, funcionales y organolépticas se vean alteradas. Por otro lado, la fermentación es un proceso que tiende a mejorar las características organolépticas y tecnológicas de un alimento, sin embargo, también puede influir en la vida de estante del mismo. En estudios previos, nuestro grupo de trabajo analizó las características tecnológicas y organolépticas producidas por tres cepas de lactobacilos en matriz soja durante la fermentación. El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes cambios en la proteína y compuestos de aroma durante el almacenamiento de pasta de soja fermentada con *Lactobacillus* (Lb) *paracasei* subsp. *paracasei* CRL207, Lb *fermentum* CRL251 o Lb *zeae* CRL981

Materiales y Métodos: Se preparó pasta de soja con un 65% de humedad, se inoculó al 2% individualmente con cada uno de los lactobacilos y se incubo a 37°C durante 16 horas; se empleó como control una muestra sin inocular. Las pastas de soja se almacenaron a -20ºC y se tomaron muestras a 0, 3, 6 y 12 meses. En cada tiempo se determinó pH, aminoácidos (aa) libres (técnica de o-ftaldialdehido, OPA), proteínas totales (Bradford) y se realizó electroforesis en geles SDS-PAGE de cada muestra. Por otro lado, se evaluó la presencia del par diacetilo-acetoína, cualitativamente mediante la reacción de King.

Resultados: El pH de cada una de las muestras se mantuvo durante el almacenamiento: pasta control 6,44±0,03; pastas fermentadas entre 4,64±0,09 y 5,59±0,11. En cuanto a los aminoácidos libres en las pastas de soja fermentadas se pudo observar que la muestra inoculada con CRL207 se mantuvo estable hasta los seis meses, mientras que las otras muestras incluso el control se observa una mayor cantidad de aa libres cuanto más prolongado es el almacenamiento. Se pudo observar que la cantidad de proteínas totales disminuyó con el almacenamiento en todas las muestras. El perfil electroforético de las proteínas evidenció mayor intensidad en las bandas al comienzo del almacenamiento (tiempo 0) en las muestras control y fermentada con CRL251. En las muestras fermentadas con CRL207 y CRL981 la intensidad de las bandas fue débil en los distintos tiempos evaluados, siendo apenas visibles a los 12 meses, indicando que la cantidad de proteínas en las matrices de soja se ven afectadas por el almacenamiento. Con respecto a la determinación cualitativa de los compuestos de aroma se observó una mayor intensidad en el color del halo de las muestras fermentadas con CRL207 y dicha intensidad se mantuvo durante el almacenamiento. En las otras muestras no se observó cambio en los tiempos de almacenamiento evaluados (3, 6 y 12 meses).

Conclusiones: En conclusión, podemos decir que el almacenamiento de pasta de soja fermentada afecta la concentración de proteínas y aa libres, mientras que el pH y la producción del par diacetilo-acetoína no se ven modificadas.

VI 172

0165 - CAPACIDAD ANTIINFLAMATORIA Y GASTROPROTECTORA DE *LACTOBACILLUS PARACASEI* CIDCA 8339 Y SU LECHE FERMENTADA

BENGOA, Ana Agustina [1] | ERREA, Agustina Juliana[2] | RUMBO, Martín[3] | ABRAHAM, Analía Graciela[1] | GARROTE, Graciela Liliana[1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN CRIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (CONICET-LA PLATA) [1]; INSTITUTO DE ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS Y FISIOPATOLÓGICOS (IIFP, UNLP-CONICET) [2]; INSTITUTO DE ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS Y FISOPATOLÓGICOS (IIFP, UNLP-CONICET) [3]

Introducción y Objetivos: La gastritis constituye un importante problema de salud a nivel mundial que puede derivar a complicaciones severas como úlceras y cáncer. Actualmente, el tratamiento de las úlceras gástricas (inhibidores de la bomba de protones y antibióticos) está asociado a diversos efectos adversos tales como

diarrea y nauseas. En este contexto, el uso de leches fermentadas con microorganismos probióticos surge como una posible alternativa para prevenir y aliviar los síntomas asociados a la inflamación gástrica. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la cepa *Lactobacillus paracasei* CIDCA 8339 aislada de kefir y su leche fermentada en cuanto a su capacidad antiinflamatoria y protectora de la mucosa gástrica.

Materiales y Métodos: *L. paracasei* CIDCA 8339, productor de exopolisacárido (EPS), se creció en caldo MRS (24h, 30ºC). Se evaluó su capacidad de adhesión a células de epitelio gástrico AGS. A partir de la leche fermentada con la cepa (5%v/v, 24h a 30ºC) se obtuvo la fracción no microbiana (FNM) (centrifugación 5 min a 6000rpm, filtración 0,45 µm y neutralización con NaOH) y se evaluó la capacidad moduladora de la respuesta inmune innata inducida con flagelina (0,5 µg/ml) en células AGS mediante determinación de IL-8 por ELISA. En el mismo sistema se estudió el efecto de los metabolitos presentes en la FNM incluyendo EPS (200 y 800mg/L), lactato y acetato. Se estudió la modulación de la vía NF-kB mediante transfección transiente de las células AGS con el gen reportero luciferasa de luciérnaga bajo el dominio de un promotor inducible con NF-kB. Para evaluar el efecto gastroprotector en ratones Balb-c, se administró *ad libitum* durante tres días una suspensión de *L. paracasei* CIDCA 8339 (2.10^9 UFC/ml). Luego, se les administró por gavage 200µl de etanol 60% + 0,15M HCl para inducir la gastritis y al cabo de 2 h se sacrificaron y se evaluó el daño gástrico en cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina.

Resultados: *L. paracasei* CIDCA 8339 fue capaz de adherirse a células AGS (10^6 de 10^8 UFC/ml iniciales). La FNM de la leche fermentada redujo la expresión de IL-8 en un 70%, similar a lo observado con el sobrenadante de una leche acidificada conteniendo lactato 100mM y acetato 12mM. Las soluciones acuosas de lactato y acetato modularon la expresión de IL-8 de manera dosis dependiente, la cual no se observó con el EPS. La presencia de la FNM y lactato 100mM en células transfectadas redujo la expresión de la luciferasa indicando inhibición de la vía NF-kB. El consumo de *L. paracasei* CIDCA 8339 en ratones logró reducir el daño inducido a nivel gástrico en comparación con el grupo control (agua).

Conclusiones: La leche fermentada con *L. paracasei* CIDCA 8339 presentó buenas propiedades antiinflamatorias y protectoras a nivel gástrico que pueden ser atribuidas en parte a la bacteria y en parte al ácido láctico producido *in situ* en el estómago o durante la fermentación de la leche, siendo una alternativa para reducir el daño y aliviar la sintomatología en pacientes que sufren gastritis.

VI 173

0475 - APLICACIÓN DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* EN CARNE PORCINA PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS INVOLUCRADOS EN ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA

RUIZ, María Julia | PADOLA, Nora Lia | GARCÌA, Mauro Daniel | **ETCHEVERRIA, Analia**

LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, CIC, FCV, UNCPBA

Introducción y Objetivos: *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) es una bacteria ácido láctica considerada segura y se utiliza a nivel mundial en la producción de alimentos siendo sumamente atractiva como herramienta de control de crecimiento de patógenos en gran variedad de alimentos. Sus cualidades antibacterianas son interesantes para la seguridad de los alimentos en la tecnología de biopreservación basada en la prolongación de la vida útil de los alimentos. Particularmente, la carne, representa una potencial fuente de transmisión de patógenos. En los últimos años se ha registrado un incremento en la producción y consumo de carne de cerdo en nuestro país y sumado a cambios tecnológicos en la producción y preferencias del consumidor por rápidas formas de alimentación, generan oportunidades de contaminación de los alimentos. La estrategia de conservación natural de la carne contribuiría con la seguridad alimentaria. El objetivo de este estudio fue aplicar *L. plantarum* en una matriz cárnica como método de control de bacterias patógenas involucradas en ETA.

Materiales y Métodos: La matriz cárnica utilizada fue carré de cerdo de 1 cm de espesor. *L. plantarum* de origen porcino se aplicó como bacteria biopreservadora y STEC EDL933, *S.* Tiphymurium y *S. aureus* como bacterias indicadoras de la actividad antibacteriana. 50 µl de cada patógeno se inocularon en 9 fetas (3 con cada patógeno) y se reposaron por 15 min. Se realizó la aspersión de las fetas control con 0,5 ml de agua, quedando inoculadas sólo con el patógeno y, finalmente se aplicaron 0,5 ml de *L. plantarum* sobre las dos fetas de cada patógeno (análisis de 48 y 72 h). Las muestras se envasaron al vacío y conservaron a 1°C. Para el análisis, se procesaron en *Stomacher* con 225 ml de agua de peptona 0,1% por 1 min. Se realizaron diluciones y se cuantificaron después de 24 h a 37°C en agar Mac Conkey para STEC, *Salmonella-Shigella* para *S.* Tiphymurium y manitol salado para *S. aureus*. Los controles se analizaron a las 72 h por igual metodología.

Resultados: La determinación del efecto inhibitorio en la matriz cárnica se realizó comparando los recuentos de las muestras tratadas con *L. plantarum* y las bacterias patógenas a las 48 h y 72 h con los controles sólo inoculados con el patógeno. En 2 de las muestras inoculadas con STEC, se observó una disminución en el número de bacterias patógenas a las 48 h, la muestra restante fue reducida a las 72 h Las tres muestras de *S.* Tiphymurium y de *S. aureus* fueron reducidas tanto a las 48 h como a las 72 h.

Conclusiones: Mediante este estudio descriptivo se redujo la presencia de bacterias patógenas en una matriz cárnica de cerdo mediante la aplicación de *L. plantarum*. Estos resultados indicarían que *L. plantarum* de origen porcino podría ser utilizado en la industria alimentaria, principalmente cárnica, como potencial biopreservador para el control de bacterias implicadas en ETA, permitiendo la obtención de alimentos seguros.

VI 174

0971 - EVALUACIÓN DEL CARÁCTER PREBIÓTICO DE GALACTOOLIGOSACÁRIDOS SINTETIZADOS POR LA B-GALACTOSIDASA DE *LACTOBACILLUS BULGARICUS* CRL 450 A PARTIR DE LACTOSA

FARA, Maria Agustina [1] | SÁEZ, Gabriel Dario[2] | MONTILLA CORREDERA, Antonia[3] | ZÁRATE, Gabriela[2]

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [1]; CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) / UNIVERSIDAD DE SAN PABLO (USPT) [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN CIAL (CSIC-UAM) [3]

Introducción y Objetivos: Los galactooligosacáridos (GOS) son compuestos prebióticos que tienen un efecto positivo en la salud de los consumidores ya que estimulan el crecimiento y la actividad de microorganismos beneficiosos en el colon. Se producen mediante una reacción de transglicosilación llevada a cabo por la enzima ß-galactosidasa (ß-gal) a partir de lactosa u otro sustrato con galactosa en posición terminal. Los lactobacilos presentan ésta actividad enzimática lo que ha permitido su aplicación en el desarrollo de alimentos lácteos fermentados y probióticos para intolerantes a la lactosa. Sin embargo, su actividad transglicosidasa ha sido poco estudiada. El objetivo de este trabajo fue sintetizar y caracterizar GOS producidos por la enzima ß-gal de lactobacilos y evaluar su potencial efecto prebiótico sobre dos cepas probióticas.

Materiales y Métodos: Para ello, se realizó inicialmente un ensayo de actividad hidrolítica de los extractos libres de células (ELC) de 20 cepas de lactobacilos pertenecientes a la colección de CERELA-CONICET, midiendo la cinética de hidrolisis del sustrato O-nitrofenil-ß-galactpiranósido (ONPG) a 420 nm. La cinética de reacción, nos permitió seleccionar a *L. bulgaricus* CRL 450 (2,6 ± 0.3 U mL^{-1}) como la cepa con mayor actividad específica. Los CRL450-GOS se sintetizaron incubando (1:1), el ELC de *L. bulgaricus* CRL 450 con lactosa (600 g L^{-1}) durante 5 h a 45 ºC. Mediante GC-FID se determinó que la mezcla de reacción obtenida contenía un 43,3% de GOS, incluyendo di-, tri- y tetrasacáridos. La purificación de los GOS se realizó a partir de un tratamiento de adsorción-desorción con carbón activado y etanol y posterior fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* (10^9 CFU mL^{-1}) a 37 ºC durante 24 h para eliminar mono- y disacáridos. El análisis por HPLC confirmó la eliminación del 100% y 95% de mono- y disacáridos presentes. Para ensayar el efecto prebiótico, los GOS purificados se utilizaron como fuente de carbono para el crecimiento de dos reconocidas cepas probióticas; *Lactobacillus casei* CRL 431 y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 y se evaluaron parámetros de crecimiento como biomasa final (absorbancia a 600 nm y recuento en medios selectivos), determinación de pH y concentración de ácidos orgánicos por HPLC a las 24 horas de fermentación.

Resultados: Aunque el crecimiento, comparado con el prebiótico comercial Vivinal GOS fue menor, los probióticos fueron capaces de usar los nuevos CRL450-oligosacáridos como fuente de carbono y energía, lo que se comprobó por el aumento en la densidad óptica de los cultivos e incremento en el recuento microbiano (desde aproximadamente 10^4 UFC mL^{-1} hasta 8.4 10^8 UFC mL^{-1} para *L. casei* CRL 431 y 7 10^7 UFC mL^{-1} para *B. animalis* BB-12), disminución del pH del medio (1.5 unidades) y producción de ácidos láctico y acético.

Conclusiones: Podemos concluir que los oligosacáridos sintetizados por *L. bulgaricus* CRL 450 podrían tener capacidad prebiótica, ya que estimulan el crecimiento de microorganismos beneficiosos.

VI 175

0972 - EVALUACIÓN IN VITRO DEL POTENCIAL FUNCIONAL DE HARINAS DE LEGUMBRES FERMENTADAS CON BACTERIAS LÁCTICAS

SÁEZ, Gabriel Dario | LEVIT, Romina | FARA, Maria Agustina | DE MORENO, Alejandra | ZÁRATE, Gabriela

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: El auge en el consumo de alimentos funcionales que impactan positivamente en la salud del consumidor ha llevado a la industria alimenticia al diseño de nuevas estrategias de procesamiento de materias primas para ofrecer productos que satisfagan esta creciente demanda. Una alternativa relevante consiste en el uso de bacterias lácticas (BAL) como cultivos iniciadores para la fermentación de diferentes matrices. En este sentido, la harina de legumbres representa una clase de alimento susceptible a este tipo de fermentación, cuyas propiedades nutricionales y funcionales pueden potenciarse con la implementación de este proceso. El objetivo de este trabajo fue determinar en líneas celulares, la funcionalidad de extractos de harinas de poroto y garbanzo fermentadas con BAL.

Materiales y Métodos: Para ello, se fermentaron harinas de poroto alubia y garbanzo kabuli producidos en la región, con un co-cultivo de *Lactobacillus plantarum* CRL 2211 y *Weissella paramesenteroides* CRL 2182 durante 24 h a 37° C. A partir de estas harinas fermentadas y sus controles sin fermentar, se obtuvieron extractos acuosos cuyos compuestos fenólicos (CF) y actividad antioxidante fueron cuantificados mediante métodos colorimétricos (Folin-Ciocalteu y captura del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)). Concentraciones crecientes de los extractos fenólicos fueron adicionados a 10^6 células Caco2 usadas como modelo de epitelio intestinal e incubados a 37° C – 5 % de CO_2 durante 24 y 48 h, midiendo luego la viabilidad celular con la técnica colorimétrica de reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) (MTT). El efecto funcional de las harinas fermentadas fue evaluado también en células Raw 264.7 estimuladas con lipopolisacárido (LPS) de *E. coli* cuantificando en el sobrenadante celular la producción de citoquinas proinflamatorias (IL-6 y TNF-a), antiinflamatorias (IL-10) y óxido nítrico (NO).

Resultados: La fermentación con el cultivo láctico incrementó la concentración de CF desde 483±10 a 795±16 µg EAG/mL en la harina de poroto y 476±15 a 997±11 µg EAG/mL en la harina de garbanzo. En concordancia, la actividad antioxidante de la harinas fermentadas aumentó de 0,31±0,04 a 0,48±0,06 mmoles EAG/mL en el caso del poroto y 0,49±0,05 a 0,8±0,03 mmoles EAG/mL en garbanzo. Las harinas fermentadas resultaron más eficientes para proteger la viabilidad celular (87 % harina fermentada vs 47 % harina sin fermentar luego de 48 h) siendo los efectos protectores y citotóxicos dependientes de la concentración de CF presentes. Los extractos fenólicos de harinas fermentadas de poroto y garbanzo, ejercieron un marcado efecto protector frente al LPS, al producir una disminución de IL-6, TNF-a y NO.

Conclusiones: Los resultados obtenidos demuestran los potenciales beneficios de la fermentación de harinas de legumbres para ser incorporadas al desarrollo de nuevos alimentos funcionales.

VI 176

0304 - LA BACTERIA PROBIOTICA *BACILLUS SUBTILIS* PREVIENE EL AGREGADO DE ALFA-SINUCLEINA Y LA DEGENERACION DE NEURONAS DOPAMINERGICAS EN EL MODELO DE PARKINSON *CAENORHABDITIS ELEGANS*

FRANCISCO, Marcos | CRESPO, Cira | COGLIATI, Sebastian | GRAU, Roberto

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Introducción y Objetivos: La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo que afecta a más de 7 millones de personas en todo el mundo y se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas. Existe una asociación clara entre los cambios en la microbiota intestinal y el inicio y la progresión del Parkinson. Por otro lado, se sabe que las bacterias probióticas, una vez alojadas en el intestino, producen efectos beneficiosos sobre la salud del hospedador.

Materiales y Métodos: En este trabajo, analizamos a la bacteria probiótica B. subtilis, la cual es consumida desde hace siglos por el pueblo japonés, como una alternativa potencial contra la EP. Se utilizaron las cepas DG101 de *B. subtilis* y OP50 de *Escherichia coli* como alimento probiótico y no probiótico, respectivamente. Como modelo animal utilizamos al nematodo Caenorhabditis elegans, ya que posee vías y mecanismos neuronales de regulación conservados en mamíferos, incluido los humanos. Las cepas de *C. elegans* utilizadas en este trabajo fueron, N2 Bristol (silvestre), NL5901 (que expresa YFP fusionada a α-sinucleína humana), VC1024 (afectada en la síntesis de Pdr1, un homólogo de PARK2 humano) y BZ555 (que porta una función reportera fluorescente en las neuronas dopaminérgicas). Se evaluaron los siguientes parámetros de comportamiento: locomoción, quimiotaxis, censado de alimento, fecundidad y defecación en gusanos N2, VC1024 y NL5901 alimentados con DG101 u OP50, como indicativo de síntomas de EP en el nematodo. Gusanos BZ555 fueron tratados con 3 concentraciones (25, 50 y 100 mM) de la neurotoxina 6-hidroxidopamina (6-OHDA) y alimentados luego con DG101 u OP50. Mediante microscopia de fluorescencia se observó la formación de agregados de α-sinucleína en gusanos NL5901 alimentados con el probiótico comparados con gusanos alimentados con OP50 a las 24, 120 y 168 horas a partir de su llegada al estadio adulto. También se monitoreó el porcentaje de neuronas sanas en gusanos BZ555 adultos de 5 días alimentados con DG101 u OP50.

Resultados: .La caracterización de los parámetros de comportamiento de los gusanos VC1024 y NL5901 mostraron una mejora significativa cuando fueron alimentados con DG101 en comparación con los gusanos alimentados con OP50, casi comportándose estos gusanos VC1024/NL5901 conteniendo DG101 como la cepa normal N2. Luego de 7 días (168 h), la producción de agregados de α -sinucleína (en las células musculares que rodean la cabeza) del gusano NL5901 alimentado con el probiótico disminuyó en más de un 75% en comparación con los gusanos control. Cuando los gusanos BZ555 se alimentaron con DG101 el porcentaje de neuronas sanas aumento de un 70% a un 90% para los gusanos tratados con 6-OHDA 25mM, de un 17% a un 47% para los tratados con 6-OHDA 50mM y no hubo diferencias significativas en los gusanos tratados con 6-OHDA 100mM.

Conclusiones: En su conjunto, estos resultados posicionan al probiótico *B. subtilis* como una potencial alternativa disponible para prevenir la EP.

CAMA - Seguridad alimentaria, calidad, higiene, inocuidad

VI 177
0308 - DEGRADACIÓN DE AFLATOXINAS POR CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE KÉFIR

GONZÁLEZ PEREYRA, María Laura | **LARA, Ana Laura** | DI GIACOMO, Ana Lucía | MARTÍNEZ, María Pía | CAVAGLIERI, Lilia R.

DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC)

Introducción y Objetivos: Las aflatoxinas (AFs), principalmente aflatoxina B_1 (AFB_1), son micotoxinas cancerígenas que contaminan productos agrícolas y materias primas utilizadas en la elaboración de alimentos para humanos y animales. El kéfir es un alimento de leche fermentada consumido en algunas culturas como probiótico. Está conformado por una estructura polisacárida en la que conviven en simbiosis bacterias (*Lactobacilus desidiosus*, *L. brevis*, *L. acidophilus* y estreptococos lácticos) y levaduras (*Sacharomyces delbruckii* y *Candida kephir*). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la capacidad de cepas aisladas a partir de kéfir de agua y kéfir de leche para degradar AFB_1, sumando otra propiedad beneficiosa a este alimento.

Materiales y Métodos: Se preparó el kéfir a partir de un inóculo de granos con la metodología tradicional de preparación para cada tipo de kéfir. Se realizó el recuento de UFC/ml mediante diluciones seriadas en agua peptonada y siembra en placa con espátula de Drigalsky. Se aislaron colonias puras en agar MRS e YPD, se observaron las características de las colonias y tinción de Gram. Se realizó un ensayo de degradación de AFB_1 según la metodología de Iram *et al.*(2015) colocando en microtubos 250 µl sobrenadante libre de células (SNLC) de cultivos de 48 h de cada cepa en caldo MRS + 50 µl de una solución que contenía AFG_1 (1,09 ng/ml), AFB_1 (74,83 ng/ml), AFG_2 (detectable no cuantificable) y AFB_2 (0,26 ng/ml). En los microtubos controles se colocaron 250 µl de caldo MRS sin inocular + 50 µl de la solución de aflatoxinas. Se incubaron los tubos a 30°C por 48 h, se analizó la concentración de aflatoxinas por HPLC según Trucksess *et al.* (1994) y se calculó el % de degradación para cada tratamiento.

Resultados: Los recuentos para el kéfir de leche fueron 1,08 x 10^9 UFC/ml en YPD y 1,13 x 10^9 UFC/ml en MRS incubado en estufa con 5% CO_2. Para el kéfir de agua los recuentos fueron 1,06 x 10^8 UFC/ml en YPD y 9,75 x 10^7 UFC/ml en MRS. Se aislaron 14 cepas de bacterias y una de levaduras a partir del kéfir de leche y 6 cepas de bacterias y una de levaduras a partir del kéfir de agua. La mayoría de las cepas fueron descriptas como bacilos pequeños Gram (+) y cocos Gram (+), encontrándose algunas colonias mixtas. Once cepas degradaron significativamente ($P<0,05$) entre 9,04 y 56,62% de AFB_1; entre 8,2 y 94, 38% de AFG_1 y entre 3,36 y 99,51% de AFB_2. Los valores de AFG_2 no fueron cuantificables en ninguna de las muestras. En el tratamiento con la cepa KL8 no se encontraron niveles detectables de ninguna de las AFs.

Conclusiones: Como conclusión, se aislaron capaces de degradar aflatoxinas a partir de kéfir, sumándole una importante propiedad a este alimento. Además, si sus productos de degradación no demuestran toxicidad mediante ensayos in vitro e in vivo estas cepas, una vez identificadas para cerciorarse de que se trata de microorganismos GRAS (generally recognized as safe = generalmente reconocidos como seguros), podrían tener potencial como aditivos probióticos y para prevenir las micotoxicosis en la alimentación animal.

VI 178
0316 - DEGRADACIÓN DE ZEARALENONA POR CEPAS DE *BACILLUS* DEGRADADORAS DE AFLATOXINA B_1 AISLADAS DE SUELOS

GONZÁLEZ PEREYRA, María Laura | DI GIACOMO, Ana Lucía | **LARA, Ana Laura** | MARTÍNEZ, María Pía | CAVAGLIERI, Lilia R.

DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC)

Introducción y Objetivos: La contaminación de productos agrícolas y alimentos balanceados con micotoxinas es un problema que afecta a la salud pública y economía a escala mundial. Zearalenona (ZEA) es un micotoxina estrogénica, producida por *Fusarium* spp., que causa desórdenes reproductivos en animales. La estrategia de detoxificación más común involucra métodos químicos de alto costo y escasa eficiencia. Aflatoxina B_1 (AFB_1) y ZEA poseen en su estructura un anillo lactona. En estudios previos se aislaron cepas de *Bacillus subtilis, B. mojavensis* y *B. cereus* capaces de degradar AFB_1 (González Pereyra et al., 2019). El objetivo del presente trabajo fue probar la capacidad de estas 11 cepas para degradar ZEA mediante metabolitos extracelulares y estudiar la toxicidad de sus productos de degradación.

Materiales y Métodos: Se realizó un ensayo según la metodología de Iram et al. (2015) colocando en microtubos 250 µl de sobrenadante libre de células (SNLC) de cultivos de cada cepa de *Bacillus* + 50 µl de una

solución de ZEA (2500 ng/ml). En los tubos controles se colocaron 250 µl de caldo sin inocular + 50 µl de la solución de toxina. Se incubaron a 30°C por 24, 48 y 72 h y se analizó la concentración de ZEA por HPLC según Cerveró et al. (2007). Se calculó la cantidad de toxinas residual en cada muestra mediante la confección de una curva de calibración y se calculó el % de degradación para cada tratamiento comparando con los controles. Se realizó un análisis por TLC comparando los productos de degradación con estándares de ZEA. Se realizó el test de *Artemia salina* para realizar un screening de las cepas que degradasen ZEA a compuestos menos tóxicos.

Resultados: Se observó que la degradación de ZEA no fue estadísticamente significativa (P<0,05) sino hasta las 72 h de incubación, encontrándose porcentajes de degradación entre 73 y 100%. Las cepas RC1B, RC3B y RC6B demostraron 100% de degradación. En el ensayo de *A. salina*, 7 de las cepas presentaron porcentajes de mortalidad de naupilos menores que ZEA (control +) siendo 0% para las cepas RC1A y RC1B. El control negativo (solución salina) obtuvo un porcentaje de mortalidad de 1,67 %. En el análisis por TLC todas las cepas fueron capaces de disminuir la fluorescencia con respecto al control indicando posible degradación de la toxina mediante ruptura del anillo lactona. Estos resultados serán confirmados por LC-MS/MS.

Conclusiones: Este estudio permitió determinar que todas las cepas analizadas, que previamente demostraron degradar AFB_1, también fueron capaces de degradar ZEA mediante metabolitos enzimáticos extracelulares. Si logra demostrarse la inocuidad de los productos de degradación en estudios *in vivo*, los estudios siguientes estarían avocados a identificar las enzimas involucradas y optimizar los métodos de su producción para la formulación de un aditivo degradador de micotoxinas para ser aplicado en los alimentos para animales.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

VI 179

0922 - AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LACTOBACILOS CON ACTIVIDAD FERULOIL ESTERASA A PARTIR DE SOJA Y MAÍZ

LÓPEZ RIZO, María Carolina [1] | ANDRADA, Lidia Estefania[2] | BERTANI, Milena Sabrina[3] | MEDINA, Roxana Beatríz[2] | PEREZ CHAIA, Adriana[3]

CERELA-CONICET [1]; CERELA-CONICET/CÁTEDRA DE EPIDEMIOLOGÍA. FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA. UNT [2]; CERELA-CONICET/CÁTEDRA DE FISIOLOGÍA MICROBIANA. FACULTAD DE BIOQUÍMICA, QUÍMICA Y FARMACIA. UNT [3]

Introducción y Objetivos: El ácido ferúlico es un compuesto fenólico con propiedades funcionales (quimioprotector, antioxidante, hipoglucemiante e hipolipemiante). Se encuentra en los vegetales como éster unido covalentemente a polisacáridos de la pared celular. Su biodisponibilidad depende de la enzima Feruloil Esterasa (FE), la cual es responsable de su hidrólisis y liberación. La presencia de FE en las bacterias lácticas (BL) es de sumo interés por su potencial empleo en el desarrollo de alimentos funcionales destinados al hombre y/o animales. Por lo tanto, resulta importante la incorporación de cepas de BL con actividad FE en productos alimenticios elaborados a partir de maíz y soja. El objetivo del trabajo fue aislar BL a partir de soja y planta de maíz con la finalidad de seleccionar aquellas que presenten actividad FE para ser utilizadas como nuevos cultivos funcionales.

Materiales y Métodos: A partir de planta de maíz ensilado durante 30 días y de semillas de soja fermentadas por 5 días se procedió al aislamiento de BL en medio de cultivo agarizado, MRS pH 5,5 y en MRS sin glucosa adicionado de etil ferulato 0,1% (MRS-EF) pH 6,5 (72h a 37°C). Las colonias aisladas fueron activadas en MRS caldo y se realizó tinción de Gram y actividad catalasa. En las bacterias Gram positivas, catalasa negativa se evaluó la presencia de actividad FE en MRS-EF (72h a 37°C) (Abeijón Mukdsi y col., 2009). Los aislados FE positiva fueron identificados a nivel de género por FISH utilizando una sonda fluorescente que hibrida específicamente con Lactobacillus (Babot y col., 2011). Para la selección de cepas se realizó rep-PCR (Gevers y col., 2001). Los geles teñidos con gel red fueron analizados con el programa GelJ. En las cepas se determinó la velocidad máxima ($V_{MÁX}$) de acidificación, tipo de fermentación, actividad amilasa y se cuantificó la actividad FE especifica (U /g peso seco) mediante espectrometría UV (Yue y col., 2009). Se empleó como herramienta estadística ANOVA a 1 factor (α=0,05) y Test de Tukey.

Resultados: De 195 aislamientos de soja y 169 aislamientos de maíz, se seleccionaron 20 cepas diferentes correspondientes al género Lactobacillus con actividad FE (9 provenientes de soja y 11 de maíz). De ellas, 14 mostraron metabolismo heterofermentativo y 6 homofermentativo. La actividad FE fue dependiente de cepa (140,9 a 37,99 U/g) observándose diferencias significativas entre las diferentes cepas (p<0,001). Los lactobacilos que presentaron mayor actividad FE (140,9 a 89,68 U/g) fueron los de menor $V_{MÁX}$ de acidificación. Ninguno de los aislamientos presentó actividad amilasa.

Conclusiones: Este estudio permite contar con cepas de lactobacilos con actividad FE para ser empleados en el desarrollo de nuevos alimentos funcionales a partir de soja y maíz, con ácido ferúlico biodisponible. Hasta el presente no se informó sobre el aislamiento de BL con actividad FE a partir de soja.

VI 180

0763 - DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS NUTRICIONALES Y METABÓLICOS EN RATONES ALIMENTADOS CON UNA DIETA RICA EN GRASA SUPLEMENTADA CON *LACTOBACILLUS FERMENTUM* CRL1446

MARQUEZ, Maria Antonela | RUSSO, Matias Irineo | LÓPEZ RIZO, María Carolina | MEDINA, Roxana Beatriz | GAUFFIN CANO, Maria Paola

CENTRO DE REFERENCIAS PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: El empleo de terapias nutricionales con probióticos tiene, en la actualidad una aplicación prometedora para trastronos metabólicos, como ser la obesidad inducida por la dieta (OID).El objetivo de este trabajo fue evaluar la administración de *Lactobacillus fermentum* CRL1446 (CRL1446) sobre parámetros metabólicos en ratones con OID

Materiales y Métodos: Se utilizaron ratones C57BL/6 machos de 5 semanas de edad, separados en 4 grupos (n= 6): Grupo Control: dieta estándar (DE), Grupo Ob: dieta rica en grasas (DRG), Grupo Control-CRL1446: DE suplementada con CRL1446, Grupo Ob-CRL1446: DRG suplementada con CRL1446. CRL1446 fue administrado por gavage en una dosis de 10^8 UFC/día/ratón durante 7 semanas consecutivas suplementando a ambas dietas (DE y DRG). Se determinó en plasma; glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL-col, LDL-col por métodos enzimáticos y leptina por ELISA. Además, se evaluaron: ganancia de peso corporal (GPC), índice de adiposidad (IA) y peso de hígado. Como prueba de seguridad se realizó translocación bacteriana.

Resultados: Los resultados mostraron: aumento de la GPC (19%) y del IA (51%) en el grupo Ob comparado con el Control. La administración de CRL1446 indujo una disminución de la GPC (11%) respecto al grupo Ob, sin mostrar diferencias significativas en el IA. Sin embargo, el IA en el grupo Control-CRL1446 disminuyó significativamente (19%) respecto al Control. El peso del hígado aumentó un 27% en el grupo Ob en comparación con el grupo Control y CRL1446 provocó una disminución significativa del mismo (19%). Los valores de glucosa del grupo Ob aumentaron significativamente (2.9 veces) respecto al Control, mientras que en el grupo Ob-CRL1446 los niveles se normalizaron. Los valores de triglicéridos en el grupo Ob fueron (2 veces) superiores al grupo Control, pero no se observó diferencia significativa entre el grupo Ob-CRL1446 y el grupo Ob. Los niveles de colesterol total y LDL-col en el grupo Ob aumentaron un 54% y 26% respectivamente en comparación con el grupo Control. En el grupo Ob-CRL1446, los valores de colesterol se normalizaron a niveles similares al grupo Control y los valores de LDL-col disminuyeron un 60% con respecto al grupo Ob. Por el contrario, los niveles de HDL en el grupo Ob fueron un 19% menor en comparación con el grupo control, y en el grupo Ob-CRL1446 los niveles de HDL-col disminuyeron respecto al grupo Control. La concentración de leptina en plasma aumentó significativamente (4 veces) en los ratones del grupo Ob. CRL1446 redujo los niveles de leptina con respecto a los ratones del grupo Ob. No se observó translocación bacteriana en hígado y bazo, por lo que se considera que a la dosis utilizada es inocua para los ratones.

Conclusiones: En conclusión, sugerimos la utilización de la cepa CRL1446 como suplemento de terapias nutricionales debido a sus propiedades hipocolesterolémicas e hipoglucemiantes.

VI 181

0814 - PROPIEDADES PROBIÓTICAS Y TECNOLÓGICAS DE BACTERIAS LÁCTICAS AISLADAS DE PRODUCTOS LÁCTEOS CAPRINOS

MARQUEZ, Maria Antonela | BOLONDI, Maria Lujan | LÓPEZ RIZO, Maria Carolina | GAUFFIN CANO, Maria Paola | MEDINA, Roxana Beatriz

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Las bacterias lácticas (BL) constituyen un grupo de microorganismos que están presentes en diferentes nichos (vegetales, leche, intestino humano y animal). Se caracterizan por presentar diferentes propiedades beneficiosas las cuales las potencian para ser utilizadas en alimentos funcionales o como probióticos. Para emplear una BL como probiótico, esta debe cumplir con diferentes criterios preestablecidos, como ser su origen e identificación, presentar propiedades benéficas in vitro, en animales experimentales, resistencia a tracto gastrointestinal (TGI), ser seguras y resistentes a procesos tecnológicos. El objetivo de este trabajo fue evaluar propiedades probióticas *in vitro* e *in vivo* y velocidad de acidificación de BL, con la finalidad de desarrollar una leche fermentada funcional.

Materiales y Métodos: Se evaluaron 10 cepas de BL aisladas de productos lácteos caprinos identificadas fenotípica y genotipicamente (*Lactobacillus* (*L.*) *johnsonii* CRL1231, *L. rhamnosus* CRL1425, *L. plantarum* CRL1427, *L. plantarum* CRL1428, *L. casei* CRL1430, *Lactococcus lactis* CRL1434, *L. fermentum CRL1446*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* CRL1447, *L. plantarum* CRL1449 y *L. plantarum* CRL1472). Las propiedades benéficas in vitro determinadas fueron: capacidad de adhesión y de autoagregación, inhibición de actividad alfa-glucosidasa (alfa-glu), asimilación de colesterol, actividad feruloil esterasa (FE) y de hidrolasas de

sales biliares (HSB). Las pruebas de seguridad evaluadas fueron ensayo de translocación bacteriana e inhibición de patógenos. Se determinaron propiedades tecnológicas: resistencia a condiciones del TGI simuladas, tiempo de coagulación de la leche y compatibilidad entre las cepas.

Resultados: Los resultados mostraron que CRL1447 fue la única que presentó una elevada velocidad de acidificación de la leche (tiempo de coagulación menor a 8 h). Todas las cepas presentaron bajo porcentaje de hidrofobicidad y auto-agregación y fueron compatibles entre ellas. La mayoría de las cepas resistieron las condiciones simuladas del TGI con excepción de las cepas CRL1434 y CRL1447. Las cepas que exhibieron mejores propiedades funcionales fueron: CRL1231 (alta actividad FE y inhibición del 80% de la actividad alfa-glu), CRL1427 (actividad de HSB, asimilación del 50% de colesterol e inhibición del 70% de la actividad alfa-glu), CRL1446 (actividad HSB y FE e inhibición del 95% de la actividad alfa-glu) y CRL1449 (actividad HSB y asimilación del 60% de colesterol). Estas cuatro cepas no mostraron translocación bacteriana en ratones y la sensibilidad a los antibióticos evaluados fue diferente para cada cepa estudiada.

Conclusiones: En conclusión, la cepa CRL1447 puede ser empleada como un cultivo iniciador de productos lácteos. Dado que las propiedades beneficiosas son dependientes de la cepa, proponemos la administración de un consorcio probiótico (conjunto de cepas probióticas) a fin de lograr en el huésped efectos positivos a diferentes niveles (metabolismo lipídico y glucémico).

VI 182

0388 - PRODUCCIÓN DE SELENOCISTEÍNA Y SELENONANOPARTÍCULAS POR BACTERIAS LÁCTICAS AISLADAS DE FRUTAS

MARTÍNEZ, Fernando Gabriel [1] | MORENO MARTÍN, Gustavo[2] | PESCUMA, Micaela[1] | MOZZI, Fernanda[1] | MADRID ALBARRÁN, Yolanda[2]

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET) [1]; UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID [2]

Introducción y Objetivos: El Selenio (Se) es un micronutriente esencial que se encuentra como Selenocisteína (SeCys) en el sitio activo de enzimas como glutatión peroxidasa, tioredoxina reductasa y deiodinasas. Su deficiencia está relacionada con enfermedades como disfunción tiroidea, infecciones virales y cáncer. En Argentina la ingesta diaria promedio de Se es inferior a la recomendada. En la naturaleza se encuentra principalmente en el suelo en forma de sales tóxicas de selenito y seleniato. Algunas bacterias lácticas pueden reducir estas sales en selenonanopartículas (SeNP) y selenoaminoácidos que son formas no tóxicas y de mayor biodisponibilidad. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad de bacterias lácticas aisladas de frutas de transformar y acumular Se como SeNPs y selenoaminoácidos (SeMet, SeCys y MeSeCys) y de producir compuestos volátiles de Se (dimetilselenio, dimetildiselenio y dietilselenio) para determinar su inclusión en la formulación de nutracéuticos o bebidas fermentadas bioenriquecidas en Se.

Materiales y Métodos: Para ello las bacterias *Lactococcus lactis* CRL 2011, *Weissella cibaria* 10 y 25, *Lactobacillus brevis* CRL 2051, *Lb. plantarum* CRL 2030, *Enterococcus casseliflavus* 47 y 82 y *Fructobacillus tropaeoli* CRL 2034 fueron crecidas en MRS o MRSf (MRS con 2% fructosa, para *F. tropaeoli* CRL 2034) en presencia de 5 mg/L de Se como selenito de sodio durante 24 horas a 30 °C. La concentración de Se total en los sobrenadantes y en los pellets se determinó por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), mientras que la concentración de selenoaminoácidos se realizó acoplando una columna de intercambio aniónico (HPLC-ICP-MS). Por otro lado, la capacidad de las bacterias de producir SeNPs se evaluó mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microanálisis por energía de dispersión de rayos x (XEDS). La producción de compuestos volátiles de Se se analizó mediante microextracción en fase sólida en un sistema de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Resultados: Todas las cepas fueron capaces de acumular intracelularmente entre el 25 y el 50% del Se agregado siendo *F. tropaeoli* CRL 2034 la que acumuló mayor cantidad. Las cepas en estudio pudieron producir SeCys en concentraciones entre 0,015 y 0,880 mg/L siendo las cepas de mayor producción *Lb. brevis* CRL 2051 (0,873 mg/L), *Lb. plantarum* CRL 2030 (0,867 mg/L) y el fructobacilo (0,625 mg/L). La morfología celular no fue afectada por la presencia de Se en el medio de cultivo. Todas las cepas fueron capaces de formar SeNPs esféricas. La mayoría de las cepas estudiadas no produjeron compuestos volátiles de Se, a excepción de las dos cepas de enterococos para los cuales se detectó dimetildiselenio aunque en concentraciones menores a los límites de cuantificación de la técnica utilizada.

Conclusiones: Las cepas *Lb. brevis* CRL 2051, *Lb. plantarum* CRL 2030 y *F. tropaeoli* CRL 2034 podrían utilizarse para la elaboración de nutracéuticos o bebidas fermentadas bioenriquecidas en SeCys y SeNPs.

VI 183

0460 - POTENCIAL CAPACIDAD BIOTRANSFORMADORA DE BIFIDOBACTERIAS SOBRE ACENOCUMAROL

FRAGOMENO, Melisa[1] | MOBILI, Pablo[1] | **MINNAARD, Jessica** [2] | PÉREZ, Pablo Fernando[2]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN CRIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (CONICET-LA PLATA) [1]; CIDCA (CONICET, CICPBA Y UNLP)/CÁTEDRA DE MICROBIOLOGIA GENERAL (FCE, UNLP) [2]

Introducción y Objetivos: El acenocumarol (AC), antagonista de la vitamina K, es un anticoagulante oral muy utilizado, cuya dosificación es afectada por interacciones con alimentos u otros medicamentos, entre otros factores. Dado que la microbiota intestinal es clave en la biotransformación de drogas, son necesarios estudios con bacterias probióticas de uso alimentario para evaluar posibles efectos en individuos con tratamiento anticoagulante. El objetivo de este trabajo es evaluar *in vitro* el efecto de bifidobacterias de origen humano sobre el AC.

Materiales y Métodos: Las cepas *Bifidobacterium bifidum* CIDCA 5310 ó *B adolescentis* CIDCA 5317 o sus sobrenadantes (SN) de cultivos de 24 hs, se incubaron en anaerobiosis (MRS, 37°C, 24 hs) con y sin AC. MRS con y sin AC fueron los controles. Al inicio (t0) y a las 24 hs (t24) se determinó AC en filtrados de las muestras y controles (0.22 µm) por HPLC (columna C18 5um 4,6X250mm, fase móvil 60/40 acetonitrilo/fosfórico, detector UV/Vis, espectro 250-350 nm). Se evaluaron tiempo de retención (tr) y área del pico. Además se realizó un análisis por FTIR en un espectrómetro Thermo Nicolet iS10 ATR-FTIR, depositándose 4 µL de muestra sobre una ventana de ZnSe; se registró el espectro IR en el rango 650-4000 cm^1

Resultados: El análisis cromatográfico mostró que a t0 los tr del AC estuvieron alrededor de 13,4 min para todas las condiciones ensayadas (MRS, cepas o sus SN) y el área de los picos se correspondió con una concentración de AC de 0.015 mg/ml ± 0,003, compatible con la concentración agregada (0.016 mg/ml). Además, los espectros fueron coincidentes. Luego de 24 h de incubación, el control de MRS sin bacterias no presentó variaciones significativas (tr=13.90, AC=0.011 mg/ml ± 0,006) pero se observó un corrimiento del tr a 6,48 y 6,40 para los cultivos de las cepas 5310 y 5317 con áreas de pico significativamente menores (0,0046 ± 0,0002 y 0,0053 ± 0,0012, respectivamente, vs 0,0103 ± 0,0007 para t0 en ambas cepas). Cuando se utilizó una concentración de AC de 0.16 mg/ml, a t24 se observaron 3 picos cercanos a tr 6,25; 10,60 y 15,30 min para ambas cepas. El espectro del pico de tr 6,25 min fue diferente a los otros dos que fueron iguales entre sí. Controles de MRS a diferentes pH (de 4 a 7) o sobrenadantes de cultivos de 24 h con AC inicial 0,016 mg/ml, presentaron un pico a 14,10 min y área equivalente a 0.011 mg/ml ± 0,002 de AC lo cual indica la necesidad de la presencia de bacterias para que ocurra el corrimiento observado. La espectrometría FTIR de los cultivos con AC 0,16 mg/ml evidenció un pico en la zona de 1650 1/cm que se corresponde con el estiramiento del carbonilo en el grupo lactona del AC. La altura de este pico disminuyó a la mitad en los cultivos de 24 hs, respecto al valor inicial de los cultivos a t0 y a los controles de MRS AC sin inocular.

Conclusiones: Nuestros resultados indicarían que las cepas son capaces de modificar el anticoagulante *in vitro* lo cual podría ser relevante como variable a considerar en la dosificación del medicamento.

VI 184

0807 - EFECTO DE LA DESHIDRATACIÓN DE LEVADURAS EN SU CAPACIDAD MODULATORIA DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA DEL EPITELIO INTESTINAL

PENDON, María Dolores [1] | MADEIRA, José V.[2] | GOMBERT, Andreas[2] | RUMBO, Martin[3] | GARROTE, Graciela L.[1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN CRIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (CONICET-LA PLATA) [1]; LABORATORIO DE INGENIERÍA METABÓLICA Y BIOPROCESOS (LEMEB), UNIVERSIDAD DE CAMPINAS (UNICAMP) [2]; INSTITUTO DE ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS Y FISIOPATOLÓGICOS (IIFP, UNLP-CONICET) [3]

Introducción y Objetivos: Los procesos tecnológicos a los que son sometidos los microorganismos durante la producción de alimentos pueden causar alteraciones en su funcionalidad biológica. Se han descripto levaduras de *Kluyveromyces marxianus* con capacidad de resistir las condiciones del tracto gastrointestinal e inmunomodular, entre otras características que las hacen atractivas para su empleo como probióticos. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la deshidratación de levaduras en su capacidad de modular in vitro la respuesta inflamatoria del epitelio intestinal.

Materiales y Métodos: Para ello, se ensayaron levaduras *Kluyveromyces marxianus* Km4, Km9 (aisladas de gránulos de Kefir, colección del CIDCA), Km22 y Km27 (colección del LEMeB, UNICAMP). Las cepas fueron crecidas en permeado de suero de leche durante 24h a 30°C y luego sometidas a un proceso de deshidratación utilizando Spray-dryer BUCHI (Mini Spray Dryer B-290), con un flujo de alimentación de 8-11 mL/min y temperatura de entrada y salida de aire de 130°C y 58-62°C, respectivamente. Se prepararon suspensiones de cada levadura deshidratada 1 g/ml en solución fisiológica y diluciones 1/10 y 1/100. Como control se empleó una suspensión de las levaduras frescas crecidas en el mismo sustrato. En cada caso se realizó conteo al microscopio con Azul de metileno y recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en placas de agar YGC. Las suspensiones fueron analizadas en el sistema reportero de células epiteliales Caco-2-ccl20:luc en el que el gen de la luciferasa se encuentra bajo el control del promotor de la quimoquina CCL20 que presenta una correlación directa entre el aumento de luminiscencia y la actividad inflamatoria inducida por flagelina de Salmonella.

Resultados: Para una misma suspensión de levadura deshidratada el número de microorganismos viables determinados en placas de Petri fue de tres órdenes de magnitud menor que el recuento de células vivas incoloras contadas con Azul de metileno. Sin embargo, para un cultivo fresco no se observaron diferencias en los conteos. En los controles se observó que 10^7UFC/ml redujeron un 95% la respuesta inmune innata epitelial, siendo coincidente con el conteo realizado mediante azul de metileno. En el caso de las levaduras secas, si bien y al igual que en el control, para las cuatro cepas ensayadas fueron necesarias 10^7 y 10^6 UFC/ml para disminuir la respuesta inflamatoria en un 95% y 50% respectivamente, para lograr una modulación equivalente se debieron emplear 10^{10} levaduras vitales/mL contadas al microscopio.

Conclusiones: Pudo observarse que luego del estrés causado por la deshidratación, aunque muchas células permanecen metabólicamente activas, sólo el 0,1% mantienen su capacidad de duplicarse siendo esta una condición necesaria para su actividad inmunomodulatoria. Estos resultados tienen importantes implicancias en el método de conservación que se seleccione para la comercialización de levaduras cuando se pretende preservar su capacidad modulatoria de la respuesta inmune innata.

CAMA - Seguridad alimentaria, calidad, higiene, inocuidad

VI 186

0611 - MICOBIOTA Y MICOTOXINAS EN GARBANZO (*CICER ARIETINUM* L.), CULTIVO DE ALTA POTENCIALIDAD ECONÓMICA EN ARGENTINA

ROMERO DONATO, Cindy Johana | CHULZE, Sofia | **RAMIREZ, Maria Laura**

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICOLOGÍA Y MICOTOXICOLOGÍA (IMICO) CONICET-UNRC

Introducción y Objetivos: Para países proveedores de alimentos, como es el caso de Argentina, la contaminación con micotoxinas puede traer como consecuencia un impacto negativo o problemas en el comercio en cuanto a rechazo, restricciones o exigencias injustificadas. Por otro lado, es necesario mantener una producción competitiva y sustentable. Los consumidores se han vuelto cada día más exigentes respecto de la calidad e inocuidad de los alimentos elaborados y en el orden internacional los países importadores interponen nuevas barreras al ingreso de mercaderías, reduciendo los índices de tolerancia de sustancias que contaminan el grano y los subproductos de su industrialización, tales como las micotoxinas, insectos y agroquímicos. Debido al desempeño del cultivo de garbanzo durante los últimos años en la Argentina, la expansión de la superficie sembrada y la sólida conformación de su mercado internacional constituyen señales promisorias que alientan investigaciones. Debido a la carencia de información en nuestro país sobre la contaminación de esta leguminosa con hongos micotoxigénicos y micotoxinas durante el presente trabajo tuvo como objetivos la evaluación de la micobiota y determinar la incidencia natural de micotoxinas presente en muestras de garbanzos cosechado en la provincia de Córdoba.

Materiales y Métodos: Para la determinación de la micobiota se utilizo la metodología de dilución y siembra en superficie. La extracción, detección y cuantificación de las micotoxinas se realizo utilizando una metodología multitoxinas usando cromatografía liquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS).

Resultados: Se determinó el porcentaje de infección y se observó que todas las muestras presentaron contaminación en porcentajes que variaron entre 1 y 100%. Uno de los géneros aislados con mayor prevalencia fue *Aspergillus* spp., algunos de estos aislamientos se identificaron a nivel de especie morfológica como *A. flavus*. Otro género aislado en alta frecuencia fue *Alternaria* spp. y en menor proporción se encontraron aislados pertenecientes a los géneros: *Fusarium, Chaetomium, Penicillium* y *Rhizhopus*. Se determinó la incidencia natural de micotoxinas en 10 muestras de garbanzos mediante LC-MS/MS. Todas las muestras presentaron contaminación con cuatro toxinas fúngicas: deoxinivalenol, zearalenona, beauvericina y alternariol, en niveles que variaban entre 26,1 y 626,2 ng/g, 1,71 y 227,1 ng/g, 7,5 y 73,7 ng/g y 0,7 y 14,5 ng/g, respectivamente. Cuatro muestras mostraron contaminación con 3-acetildeoxynivalenol en niveles que variaron entre 12,7 y 50,7 ng/g. Alternariol fue encontrada en 3 muestras en niveles que variaban entre 1,4 y 2,3 ng/g. Solo una muestra presento contaminación con fumonisinas en bajos niveles. Los resultados mostraron que la mayoría de las toxinas detectadas eran las producidas por diferentes especies de Fusarium, aunque este género no se encontró como micobiota predominante.

Conclusiones: Todos estos resultados nos hacen suponer que la infección con especies de Fusarium y la consecuente producción de micotoxinas ocurre en condiciones de campo durante el desarrollo del garbanzo, cuando la semilla en formación posee mayor actividad acuosa. Al llegar a la madurez las semillas de garbanzo poseen menor actividad acuosa y por lo tanto *Fusarium* es menos competitivo y en esas condiciones prevalecen especies de *Aspergillus*.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

VI 187

0749 - VIABILIDAD DE LACTOBACILOS PROBIÓTICOS MICROENCAPSULADOS EN DIFERENTES CONDICIONES GASTROINTESTINALES SIMULADAS

GARCÍA, María José | **RUIZ, Francesca Sofia** | ASURMENDI, Paula | PASCUAL, Liliana | BARBERIS, Lucila

DTO. DE MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FCO-QCAS Y NAT, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO (UNRC)

Introducción y Objetivos: En los últimos años, la microencapsulación de microorganismos probióticos se utiliza como una estrategia para aumentar la tolerancia de estas bacterias a las condiciones gastrointestinales. Esta opción biotecnológica se basa en la capacidad de la matriz encapsulante de proteger a las cepas benéficas para que puedan llegar al intestino en estado metabólicamente activo y en cantidades adecuadas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia a condiciones gastrointestinales simuladas de *Lactobacillus fermentum* L23 y *L. rhamnosus* L60 microencapsulados en una matriz de proteínas lácteas.

Materiales y Métodos: Cada una de las cepas probióticas fue adicionada en leche descremada a una concentración de 10^9-10^{10} UFC/ml. Luego, las mismas mediante un proceso de emulsificación con aceite vegetal y gelificación catalizada por rennet fueron microencapsuladas. Una suspensión de lactobacilos no encapsulados (libres) fue utilizada como control. Para estudiar la resistencia al pH, los lactobacilos microencapsulados y libres fueron adicionados a una solución de NaCl (0,2% p/v) ajustada a pH 2 y 2,5, y se incubó a 37°C durante 120 min. A diferentes intervalos (0; 60 y 120 min) se realizó el recuento bacteriano en placas con agar MRS. Por otra parte, las bacterias libres y encapsuladas fueron incubadas en soluciones con distintas concentraciones de bilis (0,5; 1 y 2% p/v, pH 7) durante 120 min a 37°C. Se evaluó la viabilidad de los lactobacilos a distintos tiempos de incubación (0; 60 y 120 min).

Resultados: Los resultados de este trabajo mostraron que ambas cepas de lactobacilos libres presentaron una disminución de la viabilidad cuando fueron sometidas a bajos valores de pH. Los recuentos de L23 disminuyeron de un valor inicial de 9,03 log UFC/ml a 6,75 y 6,96 log UFC/ml luego de 120 min de exposición a pH 2 y 2,5; respectivamente. Con la cepa L60 libre, a partir de un recuento inicial de 8,67 log UFC/ml, la población bacteriana disminuyó a valores de 6,11 y 6,72 log UFC/ml luego del tratamiento a pH 2 y 2,5; respectivamente. Cuando ambos lactobacilos fueron microencapsulados presentaron mayor resistencia a la acidez, observándose una tasa de supervivencia entre 96,6%-97,7% con recuentos superiores a 8,5 log UFC/ml. Además, la microencapsulación de L23 y L60 incrementó la tolerancia de estas cepas al tratamiento con bilis. Con una concentración de 2% de bilis, los recuentos de L23 y L60 libres disminuyeron respecto de la población inicial en un 33,3% y 39,4%, respectivamente. Mientras que con las cepas microencapsuladas la población bacteriana disminuyó en menos del 3%, manteniendo recuentos superiores a 8 log UFC/ml.

Conclusiones: En conclusión, la microencapsulación de estos lactobacilos permitió protegerlos frente a condiciones gastrointestinales simuladas, incrementando significativamente su viabilidad. Los hallazgos de este trabajo son prometedores y podrían contribuir a aumentar la eficiencia en la administración de microorganismos probióticos por vía oral.

VI 188

0258 - EFECTO PREBIÓTICO Y PERFIL DE POLIFENOLES DE GALLETAS CON HARINA DE CHÍA EN MODELO DE DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL

SALVUCCI, Emiliano | LUCINI MAS, Agustín | BARONI, Verónica

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS CÓRDOBA (ICYTAC) - CONICET - UNC

Introducción y Objetivos: Los prebióticos son alimentos o componentes de los mismos que pueden modular el microbioma intestinal y ejercer un efecto benéfico para la salud. Muchos efectos benéficos atribuidos a ciertos alimentos pueden comprenderse al evaluar su impacto sobre el microbioma. La semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) es una de las fuentes de omega-3, antioxidantes, proteínas y fibras. El objetivo de este trabajo fue realizar digestión gástrica y fermentación colónica in vitro de las galletas elaboradas con harina de chía deslipidizada y observar el efecto sobre diferentes grupos de bacterias que componen el microbioma intestinal y sobre el perfil de polifenoles.

Materiales y Métodos: Para esto, se realizó una simulación de la digestión gástrica e intestinal que constó de 4 etapas: 1-Digestión Bucal, 2-Digestión Gástrica, 3-Digestión y Absorción en el Intestino Delgado y 4-Fermentación Colónica (utilizando materia fecal de ratones BALB/c) y absorción en Intestino Grueso. Para la elaboración de las galletas se reemplazó 10% de harina común por harina de chía rica en fibras y antioxidantes. Luego de la fermentación colónica se realizó el recuento de diferentes grupos bacterianos: bifidobacterias, *Clostridium*, enterococos, lactobacilos y enterobacterias. Se realizó el cálculo de índice prebiótico considerando los grupos benéficos (Bifidobacterias y lactobacilos) y los grupos no probióticos (Clostridios y enterobacterias), según la ecuación PI = (Lact/Total) – (Ent/Total) + (Bif/Total) – (Clost/Total), siendo Total la sumatoria de los grupos analizados al final de la fermentación. Los datos obtenidos se

sometieron a análisis de varianza y test de Fisher. La identificación y cuantificación de polifenoles en las galletas y sus digeridos, se realizó mediante HPLC-DAD-QTOF (MS/MS).

Resultados: Luego de la etapa de la fermentación colónica se observan cambios importantes en el perfil de compuestos polifenólicos. Algunos compuestos disminuyen notablemente su recuperación, mientras otros (como el ácido rosmarínico, principal polifenol de la galleta con chía) aumentan incluso por encima de la concentración inicial en la galleta. Luego de la fermentación colónica se observaron mayores recuentos de bifidobacterias y lactobacilos en las muestras de galletas con chía comparadas con las galletas control. A su vez se observan menores recuentos de enterobacterias y clostridios. El índice prebiótico de galletas de chía fue significativamente mayor respecto a galletas control alcanzando 6,3.

Conclusiones: La fermentación colónica modifica el perfil de polifenoles de galletas con chía a la vez que modula las poblaciones bacterianas promoviendo el desarrollo de bacterias benéficas como lactobacilos y bifidobacterias.

VI 189

0403 - MODULACIÓN DE MICROBIOMA INTESTINAL *IN VIVO* CON ARABINOXILANOS DE TRIGO

PAESANI, Candela[1] | MOIRAGHI, Malena[1] | ZALOSNIK, Inés[2] | SCIARINI, Lorena[1] | FABI, João[3] | DEGANO, Alicia[2] | **SALVUCCI, Emiliano** [1] | PÉREZ, Gabriela[1]

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS CÓRDOBA (ICYTAC) - CONICET - UNC [1]; DEPTO DE QUÍM BIÓL RANWEL CAPUTTO, CENTRO DE INVESTIGACIONES EN QUÍMICA BIOLÓGICA (CIQUIBIC), UNC [2]; DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y NUTRIÇIÓN EXPERIMENTAL, FACULTAD DE FARMACIA, UNIVERSIDAD DE SÃO PAULO [3]

Introducción y Objetivos: Los arabinoxilanos (AX) son polisacáridos no amiláceos que forma parte de la fibra dietética de cereales y se clasifican según su solubilidad en solubles (WE-AX) e insolubles en agua (WU-AX). Resulta interesante evaluar su capacidad como prebiótico, es decir, la capacidad de modular o promover el incremento de bacterias beneficiosas del microbioma intestinal. El trigo se clasifica de acuerdo a la dureza del grano en trigos duros y blandos, los primeros ofrecen mayor resistencia a la fractura del endosperma y por lo tanto producen harinas con un tamaño de partícula mayor que las harinas de trigos blandos. Planteamos la hipótesis de que WE-AX extraídos de harina integral de trigo duro (AX h) o blando (AX s) presentarían estructuras diferenciales que podrían afectar su efecto prebiótico. El objetivo de este trabajo fue analizar el potencial prebiótico in vivo de AX h y AX s en un modelo murino.

Materiales y Métodos: Ratones machos C57BL/6 (21 días de edad) se separaron en 4 grupos y recibieron diferentes tratamientos: Grupo 1: Control con alimentación estándar, Grupo 2: Alimento suplementado con inulina (1 mg/g de peso de ratones); Grupo 3 y Grupo 4: Alimento suplementado con 1 mg/g de peso de AX s y AX h, respectivamente. A los días 0 y 21 del tratamiento se tomaron muestras fecales para análisis del microbioma intestinal mediante PCR en tiempo real. Los grupos bacterianos evaluados fueron: Bacterias totales, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacteroidetes* (*Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas*) y *Clostridium* Cluster I. Se calcularon las diferencias para los grupos bacterianos al principio y al final del tratamiento y se expresaron como porcentaje del total. Al final del tratamiento se extrajo el contenido cecal de los ratones y se cuantificó el contenido de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) mediante cromatografía de gases (CG Agilent Technologies 7890B GC System, EE. UU.).

Resultados: El tratamiento con WE-AX incrementa los niveles de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, mientras que se disminuye los niveles de *Clostridium*, comparados con el grupo control. *Bacteroidetes* y *Enterococcus* no mostraron variaciones significativas. La promoción del crecimiento fue significativamente mayor con AX h como sustrato. Este extracto contiene moléculas de mayor tamaño que AX s. Los grupos alimentados con dieta suplementada con inulina o WE-AX presentaron la mayor concentración de acetato (AX s, 18.59 mM; AX h, 16.86 mM) y el nivel más alto de butirato (AX s 15.88 mM). A su vez, presentaron menores niveles de propionato (AX h, 1.94 mM; Ax s, 3.98 mM; Control, 7.05 mM). Este es un efecto benéfico en alteraciones del microbioma asociadas a trastornos del neurodesarrollo.

Conclusiones: Los WE-AX de trigo duro y blando tienen la capacidad de modular diferencialmente de manera saludable el microbioma intestinal, observándose mayor efecto con AX h.

CAMA - Metabolitos microbianos

VI 190

0106 - MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE UN NIÑO OBESO CON CEPAS AISLADAS DE LECHE MATERNA

ODDI, Sofía Lorena[1] | HUBER, María Paula[2] | REINHEIMER, Jorge Alberto[1] | BURNS, Patricia[1] | DUQUE, Ana Luiza Rocha Faria[3] | VINDEROLA, Gabriel[1] | **SIVIERI, Katia** [3]

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL/ INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL [1]; LABORATORIO DE PLANCTON, INSTITUTO NACIONAL DE LIMNOLOGÍA (CONICETUNL) [2]; FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, UNESP [3]

Introducción y Objetivos: Una incorrecto desarrollo de la microbiota intestinal ha sido señalado como un factor temprano clave involucrado en la aparición de enfermedades metabólicas como obesidad y diabetes tipo 2, junto a otros factores como cesárea, alimentación inadecuada, sedentarismo y estrés. La intervención temprana en la obesidad infantil ha sido propuesta por la Organización Mundial de la Salud, en este sentido los probióticos y prebióticos han demostrado resultados prometedores mediante la modulación de la microbiota intestinal y sus metabólitos, como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y los iones amonio. Modelos dinámicos *in vitro* del tracto gastrointestinal humano como el SHIME (Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem), permiten el estudio de nuevos probióticos. El SHIME es un sistema capaz de simular las condiciones fisiológicas de diferentes secciones del tracto gastrointestinal (estómago, duodeno y colon), permitiendo el análisis de la comunidad microbiana del colon. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de 2 cepas probióticas aisladas de leche materna, *Lactobacillus plantarum* 73A y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1, sobre la microbiota intestinal obtenida de un niño con obesidad utilizando el SHIME.

Materiales y Métodos: Se realizaron fermentaciones continuas (7 semanas) incluyendo 2 tratamientos (de 2 semanas c/u) y un período de lavado (1 semana) en el medio, el primero con la cepa del lactobacilo y el segundo con ambas, suministrando diariamente $10^{1}0$ UFC de cada cepa. Se realizó la secuenciación masiva del gen 16S ARNr (V3-V4) (Neoprospecta, Brasil). Se determinó niveles de AGCC (cromatografía gaseosa) y producción de iones amonio (electrodo selectivo).

Resultados: Ambos tratamientos disminuyeron significativamente la producción de iones amonio, aunque solo la combinación de lactobacilos y bifidobacterias aumentó significativamente los niveles de ácido propiónico. La combinación de ambas cepas modificó significativamente la composición de la microbiota ($p= 0,04$), favoreciendo el incremento de especies como *Roseburia intestinalis*, asociada a una buena salud intestinal.

Conclusiones: La combinación de ambas cepas aisladas de leche materna presenta potencial para modular positivamente el ecosistema intestinal en niños obesos.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

VI 191
0497 - PROBIOTIC SKYR: AN ALTERNATIVE OF FUNCTIONAL PRODUCT

FREIRE, Fernanda | SIVIERI, Katia

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA, UNESP

Introduction and objectives: The interest in nutritious and functional foods by both the consumers and the food industry, has increased significantly in the last few years. Currently, probiotic dairy products, particularly yogurts, are the main commercially available functional foods. Several types of yoghurts are available in the market and they differ in composition, taste, consistency, and caloric value. These characteristics vary according to the raw material, type of culture, and the method used in the production process. In this sense, the skyr-type yoghurt is a traditional product from Iceland currently recognized for its high protein and reduced fat contents. Recently, skyr-type yogurt is produced using centrifugation for protein concentration, however, tangential filtration is an excellent alternative for this purpose. Thus, the aim of this study was to develop a skyr-type yogurt using ultrafiltration (UF) technology, and to evaluate the physicochemical and microbiological characteristics during 28 days of refrigerated storage (5±1 ºC).

Materials and methods: Skim milk was submitted to UF using a concentration factor of 4. The process was carried out in a pilot system with an UF membrane with molecular mass cut-off of 10 kDa. The conditions during the UF were kept constant: temperature of 18 °C and transmembrane pressure of 3 bar. Next, the milk was heated to 90 °C during 5 minutes and then cooled to 43 °C for the inoculation of the Icelandic probiotic culture SKYR 1.0 (Chr. Hansen®), which contain *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and Streptococcus thermophilus StCth-52. The fermentation was carried out at 43 °C during 5 h. The packaging was made in high density polyethylene pots and the product stored at 5±1 °C.

Results: The UF process lasted 3 h 20 min., being the initial and final permeation rate 8.35 L/h/m2 and 3.60 L/h/m2, respectively. The organic membrane used showed proteins rejection rate of 96%. The pH of the skyr remained stable throughout the shelf life, presenting pH 4.82 ± 0.01 in the 28th day. Regarding to titratable acidity, it was verified that the formulation was in compliance with the current Brazilian legislation (0.96 ± 0.01 g/100g) over the 28-days period. The formulation showed a population of approximately 7 log CFU/mL of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 until the 28th day of refrigerated storage

Conclusions: It was concluded that the UF process was efficient for the production of a yogurt with high protein content and the formulation remained stable during the 28 days of refrigerated storage. In additional, the skyr-type yogurt showed to be a good matrix for carrying the probiotic microorganism.

CAMA - Microbiología industrial, ambiental y biotecnología

VI 192

0174 - EFECTO DE LA MICROENCAPSULACIÓN EN MICROGELES DE PECTINA DE *LACTOBACILLUS PARACASEI* SUBSP. *TOLERANS*EN LA FORMULACIÓN DE ALIMENTOS FUNCIONALES

TARIFA, María Clara[1] | PIQUERAS, Cristian Martín[2] | GENOVESE, Diego Bautista[2] | **BRUGNONI, Lorena** [1]

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS DEL SUR (INBIOSUR, CONICET-UNS) [1]; PLANTA PILOTO DE INGENIERÍA QUÍMICA (PLAPIQUI, CONICET-UNS) [2]

Introducción y Objetivos: La incorporación de probióticos en acuicultura es una de las herramientas más utilizadas últimamente para reducir o eliminar la incidencia de microorganismos patógenos, constituyendo una alternativa para la sustitución de antibióticos en la prevención de enfermedades infectocontagiosas. Por otra parte, tienen una variedad de beneficios a nivel nutricional, aportando enzimas y vitaminas, contribuyendo así a reducir la mortalidad y a mantener a los organismos saludables. La microencapsulación es una de las técnicas propuestas para proteger a los probióticos desde su ingesta, paso por el tracto gastrointestinal y durante el almacenamiento hasta llegar al sitio de acción, manteniendo y/o aumentando su viabilidad. Se evaluó el efecto del uso de técnicas de microencapsulación para mejorar la supervivencia de *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* solo y en la formulación de alimentos funcionales.

Materiales y Métodos: Se utilizó la cepa probiótica *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* (F2) aislada del tracto digestivo de *Ramnogaster arcuata* con probada capacidad probiótica sobre *Oncorhynchus mykiss*. Como prebiótico de interés para la formulación de alimentos funcionales se utilizó inulina comercial de grado alimentario (Sigma-Aldrich Chemical Co.) al 1% (p/v). Se realizaron suspensiones de ~ 10^13 UFC/ml de F2 en PBS y PBS + 1% inulina. Las concentraciones bacterianas finales se determinaron por recuento en placa en agar MRS. Para la encapsulación se utilizó el método de gelación ionotrópica mediante la formación de una emulsión agua/aceite utilizando pectina de bajo metoxilo (CPKelco, Limeira, Brazil) al 2% (p/p) y una solución de CaCl2 al 0,5%. Las micropartículas de gel se formaron mediante el agregado por goteo la emulsión de CaCl2 a la emulsión que contenía la pectina y la pectina + inulina. Se determinó la eficiencia de encapsulación (EE) junto con la supervivencia de la cepa microencapsulada sola y en presencia del prebiótico a lo largo de 4 semanas a temperatura de refrigeración (4ºC).

Resultados: Las micropartículas tuvieron un tamaño entre 0,2 a 20 µm con un diámetro promedio (en base área) de 6,73 ± 1,48 µm para aquellos con el probiótico solamente, y 7,20 ± 0,89 µm en los que se agregó inulina. La EE fue en todos los casos del ~ 92%. La supervivencia de F2 en presencia y ausencia de inulina a lo largo de las 4 semanas mostró una mayor viabilidad en aquellas partículas con presencia del prebiótico. Los recuentos fueron de 7,00 ± 0,00 para controles sin inulina y 8,15 ± 0,21 con inulina.

Conclusiones: La presencia de carbohidratos con potencial prebiótico junto con la utilización de técnicas de microencapsulación aumentan la viabilidad de los microorganismos a lo largo del tiempo. Los resultados muestran un promisorio futuro hacía la administración de suplementos funcionales como un enfoque alternativo al uso de productos químicos para mejorar la calidad y la sostenibilidad de la producción acuícola.

VI 193

0252 - *LACTOBACILLUS CASEI* ATCC 393 COMO AGENTE DE BIOCONTROL DE BACTERIAS PATÓGENAS EN JUGOS DE FRUTAS

TARIFA, María Clara | AGUSTÍN, María Del Rosario | **BRUGNONI, Lorena**

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS DEL SUR (INBIOSUR, CONICET-UNS)

Introducción y Objetivos: Los alimentos ácidos como los jugos de frutas han sido tradicionalmente considerados microbiológicamente seguros debido a su bajo pH, sin embargo se han reportado brotes en la literatura causados por bacterias patógenas. Dentro de las estrategias de biopreservación utilizadas están las bacterias lácticas (BL) a través de su efecto antagónico sobre patógenos de interés alimentario. Se evaluó el efecto inhibitorio de *Lactobacillus casei* ATCC 393 sobre tres reconocidos patógenos alimentarios en cultivos mixtos.

Materiales y Métodos: Se utilizó la cepa *L. casei* ATCC 393 y tres patógenos de alimentos: *E. coli* O157:H7 (EC), *S. enteritidis* (SE) y *L. monocytogenes* (LM). Como matrices alimentarias se utilizaron jugos de uva y manzana en los cuales se realizaron suspensiones ajustadas de 10^8 células ml^{-1} para la BL y 10^4 células ml^{-1} para cada especie patógena. Como superficie de ensayo se utilizó acero inoxidable (AI) de calidad alimentaria. Las siguientes situaciones fueron ensayadas para determinar la capacidad inhibitoria de la BL sobre los patógenos: (a) co-cultivo, (b) co-adhesiones y (c) pre-colonización de la BL sobre la superficie. Tanto para el caso (a) como (b) las proporciones BL: patógenos fueron de 1:1; para el caso (c) se incubo la BL con la superficie durante 24 h momento en el cual se realizó un lavado y se prosiguió al agregado de la suspensión ajustada de los patógenos. Al cabo de cada ensayo se realizó el recuento en placa, utilizándose agar EMB para *E. coli* O157:H7, agar Oxford modificado para LM, agar Sulfito Bismuto para SE y agar MRS para *L. casei*. Cada condición se analizó por triplicado.

Resultados: *L. casei* presentó la capacidad de adherirse al AI con recuentos a las 24 y 48 h de 7,20 ± 0,07 y 7,70 ± 0,09 para jugo de manzana, y de 8,44 ± 0,07 y 7,70 ± 0,3 para uva, respectivamente. En todos los casos analizados se observó una relación antagónica entre *L. casei* y las bacterias patógenas en detrimento de estas últimas. Si bien en ambos jugos se observó esta relación, el efecto fue más marcado en el caso del jugo de manzana en donde el descenso de las tres bacterias patógenas fue del 100% mientras en el caso de la BL fue de hasta un 20% con respecto a los controles. En el caso del jugo de uva se observaron resultados variables, LM fue la más sensible con una baja del 100% en todos los casos con respecto a los controles. En el caso de EC la adhesión a una superficie le representó una supervivencia del 72% para el caso (b), mientras que SE en las mismas condiciones presentó una supervivencia mayor con una disminución de un 3%. La presencia de una superficie pre-colonizada por la BL resulta de interés ya que no se registraron recuentos de ninguna de las tres patógenas en ambos jugos.

Conclusiones: Las BL son capaces de inhibir *E. coli* O157:H7, *S. enteritidis* y *L. monocytogenes*, todas relacionadas a ETAs en alimentos en general y jugos en especial. Este probiótico de interés humano muestra efectos antimicrobianos importantes tanto por su impacto en la preservación como en la seguridad alimentaria.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

VI 194

0336 - EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PROBIÓTICO DE LEVADURAS NATIVAS DE AMBIENTES VITIVINÍCOLAS: PATOGENICIDAD Y TOLERANCIA A LAS CONDICIONES DEL SISTEMA GASTROINTESTINAL

VERGARA ALVAREZ, Silvia Cristina [1] | LEIVA, Maria Jose[2] | MESTRE, Maria Victoria[3] | GALLARDO, Maria Candelaria[1] | KUCHEN, Benjamin[1] | VAZQUEZ, Fabio[4] | NALLY, Maria Cristina[5]

IBT, FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET [1]; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ [2]; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUIMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET [3]; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ [4]; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET [5]

Introducción y Objetivos: Los probióticos son microrganismos que confieren beneficios a la salud del huésped. Para ser utilizado como tal, no deben ser patógeno y deben poseer atributos como ser tolerante a condiciones presentes en el SGI. Las levaduras asociadas al proceso de vinificación (*Saccharomyces*y no-*Saccharomyces*) están adaptadas a condiciones hostiles, presentando algunas propiedades de hidrofobicidad, producción de exopolisacáridos y/o formación de biofilm. La tolerancia a condiciones de vinificación (semejantes al SGI) sumado a similitudes estructurales y funcionales convierte a las levaduras enológicas en potenciales candidatas probióticas. Objetivo: seleccionar levaduras vínicas con aptitudes probióticas mediante análisis de patogenicidad y supervivencia a condiciones del SGI.

Materiales y Métodos: Se determinó actividad hemolítica por la formación de halos de lisis alrededor de las colonias en Agar-sangre (5% sangre ovina) a 37°C, después de 48h. Se detectó actividad ureasa por el cambio de color al inocular suspensión de levadura en medio Christensen a 37ºC por 72h. El efecto de la temperatura se determinó por el crecimiento en YEPD-Agar a 25°C (control) 37, 39, 42°C después de 48h. La supervivencia a bajos pH se realizó en YEPD a pH 4.6 (control), 2 y 3 por espectrofotometría (600nm) a 0, 2, 4, 24h y plaqueo en YEPD-Agar a 0 y 4h de incubación a 37ºC. La tolerancia a sales biliares se evaluó mediante el crecimiento de levaduras en 5 estrías consecutivas en YGC-Agar (control) y YGC-Agar+bilis de buey (1%). Para la susceptibilidad a antibióticos se probaron antibacterianos (ampicilina 25, gentamicina 10, levofloxacina 10, rifampicina 20, tetraciclina 80, cloranfenicol 60 µg/mL) y antifúngicos (ketoconazol 50, clotrimazole 10, fluconazole 10, itraconazole 10, miconazole 50, nystatin 100 µg/mL). Cada levadura se inoculó ($1x10^7$ cél/ml) en YEPD-Agar para formar un lawn, se realizaron *wells* (~ 5,5 mm) y se agregó 50µl de cada antibiótico, se incubaron por 48 h a 37ºC. La sensibilidad se detectó por la formación de halos de inhibición alrededor del *well*.

Resultados: Ningún aislamiento presentó patogenicidad. Respecto a la influencia de la temperatura, 84 aislamientos tuvieron buen desarrollo a 37ºC, 68 a 39ºC y 40 a 42ºC. Según los resultados 17 aislamientos fueron viables a pH 2 y 60 a pH 3. Se registraron 49 levaduras con resistencia a sales biliares. Ningún aislamiento fue sensible a antibacterianos y 48 de ellos fueron sensibles al menos a 4 antifúngicos. Según los

valores obtenidos, 17 levaduras presentaron todas las características favorables para ser consideradas como candidatas probióticas, las mismas pertenecen a los géneros *Candida*, *Metchnikowia*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Torulaspora* y *Wickeranomyces*.

Conclusiones: Se concluye en este primer *screening* que levaduras vínicas nativas presentan aptitudes para resistir condiciones del SGI.

VI 195

0018 - DESARROLLO DE ALIMENTOS VEGETALES FERMENTADOS UTILIZANDO CEPAS DE BACTERIAS LÁCTICAS AUTÓCTONAS CON POTENCIAL ANTI-INFLAMATORIO

PUNTILLO, Melisa[1] | REINHEIMER, Jorge[1] | SALMINEN, Seppo[2] | **VINDEROLA, Gabriel** [1]

INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL (CONICET-UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL) [1]; FUNCTIONAL FOODS FORUM, UNIVERSITY OF TURKU [2]

Introducción y Objetivos: Los vegetales fermentados por bacterias lácticas (BAL) son una estrategia alimentaria con potencial para la promoción y aumento de la diversidad y funcionalidad de la microbiota intestinal, ya que proveen, simultáneamente, microorganismos benéficos y fibra dietaria. La fermentación láctica de vegetales puede ser llevada a cabo por BAL epífitas o por el agregado de cepas seleccionadas, lo cual asegura una fermentación exitosa, controlada y ayuda a la estandarización del proceso. El objetivo de este trabajo fue seleccionar cepas de BAL aisladas de sustratos vegetales para desarrollar alimentos vegetales fermentados (tipo starters o appetizers) con potencial anti-inflamatorio.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 52 cepas de BAL aisladas de diferentes sustratos vegetales (sorgo, soja, maíz, avena, etc.). Se realizaron cultivos celulares con macrófagos murinos (RAW 264.7). Se colocaron 10^5 macrófagos/pocillo (medio DMEM + 10% de suero fetal bovino) y se agregaron las BAL en una relación de 100:1. Se utilizó LPS (0,1 µg/ml) como control de activación de macrófagos. Luego de 8 horas de incubación (37 °C, 0,5 % CO_2) se cuantificó IL-10 en los sobrenadantes de cultivo (ELISA). Se seleccionaron 18 cepas que mostraron mayor nivel de inducción de IL-10 y se determinaron IL-1beta, IL-12p70, IL-2, IL-6, INF-gama y TNF-alfa por MULTIPLEX ELISA. Para la fermentación de vegetales se utilizaron zanahorias y pimientos rojos, pelados y cortados, contenidos en frascos de vidrio con solución salina (con y sin tratamiento térmico a 70 °C por 10 min), los cuales fueron inoculados (1% v/v) con un cultivo overnight de *L.plantarum*LpAv y fermentados 24 h a 27°C. Se determinó pH y se realizaron recuentos de BAL, hongos y levaduras y bacterias aerobias totales.

Resultados: 18 cepas pertenecientes a las especies *L. plantarum*, *L. paracasei*, *Pediococcus pentosaceus* y *L. rhamnosus*, mostraron capacidad de inducir la producción de IL-10 en macrófagos murinos, con diferencias en la capacidad de inducción de TNF-alfa, y baja inducción de IL-1beta, IL-12p70, IL-2, IL-6, o INF-gama. En pimiento (pH inicial 4,91), el pH final de los controles fue de 4,11 y 4,55 y el de los inoculados 3,60 y 3,52 (sin y con tratamiento térmico previo, respectivamente). En zanahoria (pH inicial 5,73) el pH de los controles a las 24 h fue de 4,13 y 5,44 y el de los inoculados 3,93 y 3,80 (sin y con TT, respectivamente). Se observó una disminución de 3 órdenes log (UFC/mL) en los niveles de bacterias aerobias totales en muestras inoculadas con respecto a los controles. Los recuentos de BAL en las muestras inoculadas y fermentadas por 24 h fueron de $1{,}08x10^9$ y $1{,}00x10^9$ UFC/mL en pimientos (sin y con TT, respectivamente) y de $4{,}08x10^9$ y $2{,}12x10^9$ UFC/mL en zanahorias (sin y con TT, respectivamente).

Conclusiones: Los resultados nos permitieron seleccionar 2 de las 52 cepas de BAL, en base a su potencial anti-inflamatorio (IL-10) y capacidad de promover la integridad de la barrera epitelial (TNF-alfa): *L.plantarum*LpAv y *L. paracasei*LcAv. Se observó además la capacidad de *L. plantarum*LpAv de dominar la fermentación de vegetales, por lo que se profundizarán los estudios para el desarrollo de alimentos vegetales fermentados con potencial probiótico.

VI 196

0521 - SIMPLIFICACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE BIFIDOBACTERIAS DE LECHE MATERNA

SENOVIESKI, Matías[1] | LOYEAU, Paula[2] | BINETTI, Ana[1] | CARRARA, Carlos[3] | REINHEIMER, Jorge[1] | **VINDEROLA, Gabriel** [1]

INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL (CONICET-UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL) [1]; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, FACULTAD DE ING. QCA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, FACULTAD DE ING. QCA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [3]

Introducción y Objetivos: La Teoría de la Higiene o de los "Viejos Amigos" postula que el aumento de las enfermedades autoinmunes e inflamatorias en las últimas décadas se debe en parte a la progresiva disminución de nuestro contacto con microorganismos. La inclusión de bacterias probióticas en la dieta, preferentemente a temprana edad, ha sido señalada como una estrategia para comenzar a revertir esta problemática. En nuestro instituto se aisló de leche materna la cepa *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1, la cual presenta capacidad antiinflamatoria y resistencia al secado spray. En vistas a una aplicación social de esta cepa, el objetivo de este trabajo fue simplificar las condiciones tecnológicas de producción de biomasa en fermentador y secado spray.

Materiales y Métodos: Se determinó la capacidad de crecimiento de la cepa en suero de queso (10% p/v) adicionado de diversos nutrientes y factores de crecimiento (combinados o individuales) presentes en el medio de cultivo de referencia (MRS), tales como glucosa (2%), pluripeptona (2%), extracto de levadura (0,5%) o mezcla de Tween 80, fosfato K, citrato de amonio, sulfato Mn y Mg. Una vez identificado/s el/los nutriente/s esencial/es, se determinó la concentración mínima necesaria. Con las condiciones seleccionadas se produjo biomasa de la cepa en un fermentador Sartorius Biostat A plus de 2 L de capacidad (37°C, 0,1% cisteína, 50 rpm de agitación, 18 h), a pH libre o pH 6,5 controlado con NaOH (8M). La biomasa producida a pH 6,5 constante y a pH libre (la cual fue neutralizada, o no), se adicionó de un 10% de maltodextrina y se deshidrató (directamente, sin centrifugación ni lavado de la biomasa) en un secadero spray de laboratorio (Yamato, Tent. 170°C, Tsal. 81°C, alimentación 5 ml/min). El número de células viables se determinó por recuento en agar MRS (72h, 37°C, anaerobiosis).

Resultados: Se determinó que el único nutriente necesario para el desarrollo de la cepa en suero de leche al 10% (p/v) es pluripetona, debiendo ser agregada en una concentración mínima de 0,5% (p/v). Las pérdidas de viabilidad celular por el proceso de secado spray fueron despreciables, y se obtuvieron polvos con niveles de células viables que variaron entre 9,3 y 10,1 órdenes logarítmicos. No se observaron diferencias significativas relacionadas a la estrategia de producción de biomasa (pH libre versus pH controlado), ni al pH de la suspensión al momento de ser deshidratado, sin embargo estas diferencias podrían manifestarse durante la conservación a largo plazo de los productos deshidratados producidos.

Conclusiones: Se concluye que fue posible simplificar la producción de biomasa de la cepa de leche materna *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 mediante su desarrollo en suero de queso (10% p/v) con el agregado de solamente 0,5% de pluripeptona, respecto al medio de cultivo de referencia (MRS). Fue posible además obtener un cultivo deshidratado por secado spray, sin centrifugación y lavado de la biomasa, lo que contribuye a la simplificación del proceso tecnológico.

CAMA - Análisis de riesgos y métodos rápidos de detección

VI 197

0941 - IDENTIFICACIÓN DE *SALMONELLA SPP, SALMONELLA* ENTERICA SEROVAR TYPHIMURIUM Y ENTERITIDIS MEDIANTE PCR CONVENCIONAL A PARTIR DE AISLAMIENTOS DE ALIMENTOS

BUFFONI ALMEIDA, Mariana | FIGUEROA, Yamila Paula | GENTILUOMO, Jimena | GRISARO, Agustina | ZIPENCO MONNE, Nadia Romina | SUCARI, Adriana

STAMBOULIAN, LABORATORIO DE ALIMENTOS

Introducción y Objetivos: La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos más prevalente y ampliamente extendida. Las serovariedades más frecuentes son *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Enteritidis asociadas con el consumo de una gran variedad de alimentos, principalmente carnes y subproductos de aves de corral, incluidos los huevos. El objetivo del presente trabajo fue poner a punto un método para diferenciar e identificar *Salmonella spp*, *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Enteritidis a partir de aislamientos obtenidos de alimentos. Se puso a punto una técnica de PCR siguiendo el protocolo del trabajo de Paiao y colaboradores del año 2013. A partir de los primers descriptos en la publicación se realizó el templado. Éstos incluyen pares de cebadores Inv-A, específico para Salmonella spp (796 pb), pares de cebadores IE-1, específicos para *S.* Enteritidis (316 pb) y pares Flic-C, cebadores específicos para *S.* Typhimurium (432 pb). Desde una cepa aislada y confirmada para *Salmonella spp*, se realizó una suspensión en 500 µl de TEX. Se extrajo el ADN bacteriano y se generó la reacción de PCR en un termociclador siguiendo el perfil térmico publicado por Paiao. Una vez completa esta etapa, se sembró en gel de agarosa al 1,5%, y se interpretaron las bandas obtenidas. La puesta a punto y verificación se realizó con 15 aislados bacterianos de referencia, tanto cepas ATCC, como identificadas por ribotipificación. Se incluyeron un aislamiento de *E. coli* y uno de *K. pneumoniae* para evidenciar falsos positivos. Luego se realizó la técnica de PCR con aislamientos obtenidos a partir de alimentos siguiendo la norma ISO 6579. Se utilizó un control negativo (ATCC *E. coli* 25922), control positivo *S.* Typhimurium y *S.* Enteritidis y control negativo de reacción. En la verificación, las muestras presentaron fragmentos amplificados de la medida esperada para el target de los genes buscados. No se observaron reacciones cruzadas ni resultados falsos positivos o negativos. En la segunda etapa, se ensayaron un total de 731 aislamientos de *Salmonella* a los que se les realizaron corridas de PCR y se interpretaron las bandas obtenidas. 110 (15%) se identificaron como S. Enteritidis, 130 (18%) S. Typhimurium

y 491 (67%) Salmonella spp. La técnica de PCR descripta es un método rápido y simple para detectar *Salmonella spp* e identificar *S*. Enteritidis y *S.* Typhimurium a partir de aislamientos de alimentos.

CAMA - Microorganismos funcionales en tecnología o salud

VI 198

0414 - EFECTO NEUROPROTECTOR DE LA BACTERIA PROBIÓTICA *BACILLUS SUBTILIS* EN EL MODELO ANIMAL *CAENORHABDITIS ELEGANS*

CRESPO, Cira | FRANCISCO, Marcos | COGLIATI, Sebastian | GRAU, Roberto

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Introducción y Objetivos: El Sistema Nervioso se encuentra constituido principalmente por neuronas que se comunican unas con otras, recibiendo información del medio interno y externo, procesándola y utilizándola para dirigir, supervisar y controlar todas las funciones y actividades de la persona. El daño o la pérdida de las mismas puede acarrear graves problemas cognitivos y funcionales. Uno de los descubrimientos más recientes y relevantes de la bacteria probiótica *B. subtilis* es que aumenta la longevidad saludable. En este trabajo, se propuso investigar si dicha bacteria es además capaz de proteger a las neuronas contra el daño causado por el paso del tiempo.

Materiales y Métodos: Se usó el nematodo *Caenorhabditis elegans* como modelo animal ya que posee un sistema nervioso simple, es transparente, de fácil observación y propagación, pequeño tamaño y presenta genes homólogos a genes humanos. Se trabajó con la cepa silvestre N2 Bristol y la cepa BZ555 la cual tiene una fusión reportera GFP en las neuronas dopaminérgicas quienes posibilitan funciones relacionadas con el movimiento y la motivación, así como también un gran número de funciones cognitivas superiores. Se utilizó la cepa DG101 de *B. subtilis* y la cepa OP50 de *Escherichia coli* como alimento probiótico y no probiótico respectivamente. Para estudiar la integridad de las neuronas se alimentaron gusanos N2 y BZ555 con OP50 como control y DG101 desde las primeras fases de desarrollo y se midieron distintos parámetros asociados a la viabilidad neuronal a lo largo del tiempo. Se realizaron ensayos de censado de alimento observando la diferencia del movimiento del gusano (n=100) en presencia y en ausencia de alimento (basal response to food). Para comprobar el funcionamiento de las neuronas sensoras de compuestos volátiles, se estudió el tiempo de reacción del nematodo frente al odorante octanol (quimiotaxis). Se examinó la funcionalidad de las neuronas motoras registrando el movimiento tanto en medio líquido (trashing) como en medio sólido (crawling). A través de microscopia de fluorescencia, se realizó el seguimiento de la neurodegeneración de la cepa BZ555 y de la cepa silvestre utilizando el colorante de neuronas DiI.

Resultados: Los resultados obtenidos en la respuesta basal y quimiotaxis demostraron que a lo largo del tiempo las capacidades sensoras disminuyeron progresivamente en los gusanos control y se mantuvo relativamente constante con DG101. Las funciones motoras en medio líquido y en medio sólido de gusanos control decaen rápidamente comparado con los alimentados con el probiótico. Al comparar la morfología neuronal se observa mayor presencia de daño con el paso del tiempo en gusanos control respecto de gusanos alimentados con DG101, tal es así que el porcentaje de daño neuronal en el día 12 de gusanos control es comparable al del día 16 de gusanos alimentados con DG101.

Conclusiones: Se puede concluir que *B. subtillis* posee un efecto protector notable sobre las neuronas de *C. elegans.*

VI 199

0366 - EL PROBIÓTICO *BACILLUS SUBTILIS* RETRASA LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN EL ORGANISMO MODELO *CAENORHABDITIS ELEGANS*

CLEMENTI, Victoria | COGLIATI, Sebastián | FRANCISCO, Marcos | ROBERTO, Grau

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Introducción y Objetivos: La enfermedad de Alzheimer (EA) es una de las patologías neurodegenerativas más comunes en edad avanzada y está fuertemente relacionada con la disbiosis microbiana. Un indicador de EA es la acumulación de péptidos amiloide-β (Aβ) en el cerebro, fundamentalmente en neuronas glutamatérgicas. Actualmente, no hay tratamiento disponible para prevenir o retardar la progresión de la EA. *Bacillus subtilis* es una bacteria formadora de esporas y se utiliza en todo el mundo como probiótico para el consumo humano. El objetivo de este trabajo fue investigar el efecto de *B. subtilis* (cepa DG101) como un tratamiento potencial de EA en el modelo animal *Caenorhabditis elegans*.

Materiales y Métodos: Las cepas de *C. elegans* utilizadas en este trabajo fueron: N2 variedad Bristol (cepa silvestre), CL2006 (expresa el péptido Aβ humano incompleto en el músculo, síntomas atenuados), GMC101 (expresa el péptido Aβ humano completo en el músculo, síntomas agudos) y CL2355 (expresión en neuronas glutamatérgicas del péptido Aβ humano). Para determinar el efecto del probiótico sobre gusanos con EA, en primer lugar se realizaron seguimientos por microscopia de fluorescencia de la neurodegeneración debido al envejecimiento de gusanos salvajes alimentados con probióticos o con la cepa no probiótica *Escherichia coli* OP50 como control utilizando el colorante liposoluble DiI (tiñe de color rojo fluorescente las neuronas glutamatérgicas). Luego, se realizaron ensayos de longevidad, de parálisis y de quimiotaxis de las cepas modelo de EA del nematodo alimentado con el probiótico DG101 o con la cepa no probiótica de Escherichia coli OP50.

Resultados: Los gusanos silvestres alimentados con la cepa DG101 demostraron un retraso significativo en la neurodegeneración comparado con los gusanos N2 alimentados con la cepa OP50. Los gusanos CL2006, alimentados con el probiótico DG101 aumentaron su longevidad saludable significativamente en comparación con los gusanos alimentados con la cepa no probiótica OP50. La cepa de *C. elegans* GMC101 alimentada con DG101 no mostró parálisis en todo el experimento en comparación con los gusanos alimentados con células de la cepa OP50. En experimentos de quimiotaxis, la cepa CL2355 alimentada con DG101 mostró una mejor eficiencia para llegar a la ubicación del quimioatractanta diacetilo (0,5%) o alcohol isoamílico (0,1%) o NaCl (125 mM), que los gusanos CL2355 alimentados con células de la cepa OP50. Curiosamente, todas las cepas modelos de EA *de C. elegans* alimentados con DG101 se comportaron como la cepa N2 de C. elegans de tipo salvaje o silvestre, lo que indica una prevención completa del desarrollo de EA en los gusanos transgénicos.

Conclusiones: En conclusión, *B. subtilis* DG101 representa un aditivo alimentario prometedor para la prevención y tratamiento de la EA en seres humanos.

CAMA - Metabolitos microbianos

VI 200

0397 - EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE FOSFATO INORGÁNICO PRESENTE EN EL MEDIO DE CULTIVO SOBRE LA ACUMULACIÓN DE POLIFOSFATO EN *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* CRL 1505

CORREA DEZA, María Alejandra | RODRÍGUEZ DE OLMOS, Antonieta | SUAREZ, Nadia Elina | FONT, Graciela | **GEREZ, Carla**

CERELA-CONICET

Introducción y Objetivos: Polifosfato inorgánico (polyP) es un polímero lineal compuesto por decenas o cientos de residuos de ortofosfato unidos por enlaces fosfoanhídridos de alta energía, que se encuentra presente en todos los seres vivos. Numerosas funciones biológicas son atribuidas a polyP, entre las que podemos destacar reservorio de energía y fosfato, quelante de metales, tampón contra álcali y ajustes fisiológicos durante el crecimiento, desarrollo y estrés. La acumulación de polyP por algunos géneros bacterianos, tanto Gram negativos como Gram positivos, es dependiente de la concentración de Pi del medio de cultivo. En trabajos previos, se ha demostrado mediante microscopía electrónica de transmisión y fluorescencia que el inmunobiótico *L. rhamnosus*CRL1505 (CRL1505) es capaz de acumular en su citoplasma polyP. En base a lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la concentración de Pi del medio de cultivo sobre la acumulación de polyP por *L. rhamnosus* CRL1505.

Materiales y Métodos: El inmunobiótico CRL1505 fue cultivado en medio MCM con diferentes concentraciones de Pi [9,2 g/L (MCM) y 0,64 g/L (MCM-)] a 37°C y se determinaron parámetros de crecimiento (recuento en placa) y acidificación (pH) a las 24 hs de fermentación. Las células fueron cosechadas en fase estacionaria de crecimiento (20 hs) a fin de comparar la acumulación de polyP mediante tinción específica para polyP (coloración de Neisser) y cuantificación de fosfatos solubles intracelulares (técnica espectrofométrica). Para estimar el PM de polyP acumulado por CRL1505 se empleó la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE), utilizando como marcador de PM un polyP sintético constituido por 45 residuos de ortofosfato (PM 4748 Da). Asimismo, mediante RT-PCRse evaluó la funcionalidad de los genes (ppk, ppx1 y ppx2) que codifican para las enzimasque participan en el metabolismo de polyP en ambas condiciones de cultivo.

Resultados: El crecimiento de CRL1505 fue ca. 0,5 unidades logarítmicas mayor en los cultivos MCM respecto a MCM- (9,03 ± 0,13 log UFC/mL y 8,68 ± 0,18 log UFC/mL, respectivamente).No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el pH luego de 20 hs de fermentación. La concentración de fosfatos solubles intracelulares fue 6,7 veces mayor en CRL1505 cultivada medio MCM respecto a las cultivadas en MCM-. Este resultado en medio MCM fue corroborado mediante electroforesis de polyP, estimándose además que el PM del polyP acumulado por CRL1505 sería superior a 4748 Da. Respecto a la expresión de los genes involucrados en el metabolismo de polyP, se observó que los tres genes son funcionales en CRL1505 en ambas condiciones de cultivo.

Conclusiones: En base a los resultados obtenidos podemos concluir que existe una relación directa entre la concentración Pi del medio de cultivo y la acumulación de polyP en *L. rhamnosus* CRL1505, siendo ésta mayor cuanto mayor es la concentración de Pi.

PÓSTERS DEL V CONGRESO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGÍA DE MEDICAMENTOS Y COSMÉTICOS (CLAMME 2019)

Pósters

Presentación de pósters CLAMME
Viernes 27 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

CLAMME - Productos cosméticos

VI 201

0181 - ACEITES DE GERANIO: POTENCIALIDADES COMO ANTIMICROBIANOS PARA LA INDUSTRIA

BARBERIA ROQUE, Leyanet | BELLOTTI, Natalia | GÁMEZ-ESPINOSA, Erasmo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN TECNOLOGÌA DE PINTURAS (CONICET-CICPBA-UNLP)

Introducción y Objetivos: El empleo de conservantes de origen natural, generalmente reconocidos como seguros GRAS (por sus siglas en inglés), se encuentra en ascenso en la industria del cuidado personal. . Estos compuestos pueden usarse directamente en productos de base oleosa o pueden integrarse a arcillas para facilitar su incorporación en productos sólidos o de base acuosa, evitando así que se volatilicen y extendiendo la duración de sus efectos en el tiempo. Es crucial encontrar entre los aceites esenciales derivados directamente de las plantas o de sus componentes puros, biocidas de amplio espectro que puedan en bajas concentraciones hacer frente a los principales contaminantes y biodegradantes que afectan a los productos de esta industriaEn este trabajo se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite de geranio y uno de sus componentes mayoritarios, el geraniol.

Materiales y Métodos: Las cepas fúngicas seleccionadas para el ensayo fueron *Aspergilus versicolor* MG725821, *Chaetomium globosum* KU936228 y *Cladosporium cladosporoides* MG731215, recurrentes contaminantes ambientales que poseen marcadas diferencias fisiológicas. Las cepas bacterianas utilizadas fueron: *Escherichia col*i (ATCC 11229) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), modelos frecuentes de ensayo de laboratorio debido a su ubicuidad y sus potencialidades como patógenos. En el caso de los hongos se determinó el grado de inhibición del crecimiento fúngico en placas de Petri, en medio MEA se inoculó una suspensión de 105 esporas por mL a 28oC. Se registró el crecimiento radial mediante la medición de los diámetros correspondientes durante 12 días. En el caso de las bacterias se evaluó la disminución de la cantidad de unidades formadoras de colonia en LB agarizado con distintas concentraciones de los aceites en estudio a 30°C durante 24h a partir un cultivo de 106UFC/mL. Ambos ensayos se llevaron a cabo con el fin de obtener el porcentaje de inhibición provocado por la acción de estos aceites sobre el crecimiento microbiano entre concentraciones de 0,015 y 0,25% de peso en volumen.

Resultados: Se observaron diferencias estadísticamente significativas tanto entre los efectos de las diferentes concentraciones como entre la acción de cada producto frente a cada microorganismo. No obstante, en todos los casos el porcentaje de inhibición fue directamente proporcional con el aumento de la concentración de los aceites. S. aureus, resultó el microrganismo más sensible, exhibiendo un 100% de inhibición a bajas concentraciones de ambos aceites y E. coli, el más resistente puesto que con aceite de geranio no se logró la inhibición total con ninguna de las concentraciones probadas.

Conclusiones: El geraniol exhibió un amplio espectro de acción antimicrobiana y eficacia a bajas concentraciones, logrando el 100% de inhibición frente a las 5 cepas probadas, de ahí que podría ensayarse como biocida, y conservante en productos que comúnmente se emplea solo como odorante.

CLAMME - Productos Farmacéuticos

VI 202

0703 - PRODUCCIÓN DE MELATONINA A PARTIR DE BACTERIAS AMBIENTALES Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO EN LA FORMACIÓN DE BIOFILM

DANILOVICH, Mariana Elizabeth [1] | ARNAU, Gonzalo[2] | ALBERTO, María Rosa[1] | JUÁREZ TOMÁS, María Silvina[2]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA Y ALIMENTARIA (INBIOFAL)-CONICET TUCUMÁN-UNT [1]; PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. [2]

Introducción y Objetivos: La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una indolamina producida por animales, plantas y microorganismos, a partir de L-triptófano como precursor. Esta sustancia presenta propiedades antioxidantes, y es muy utilizada para regular el ritmo circadiano de sueño y tratar la depresión y ansiedad. Actualmente, la melatonina es sintetizada químicamente, lo cual ocasiona severos daños en el medio ambiente. Estos antecedentes han impulsado la búsqueda de un proceso de producción biológico que pueda ser utilizado a futuro. Por otro lado, existen reportes de que esta sustancia modula diversos procesos fisiológicos en microorganismos, actuando como molécula señalizadora y afectando, por ejemplo, su capacidad formadora de biofilm. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la producción de melatonina en bacterias ambientales y estudiar su papel en la formación de biofilm de estos microorganismos.

Materiales y Métodos: Se emplearon microorganismos identificados en estudios previos como *Pseudomonas* sp. P26, *Rhodococcus jostii* RHA1, *Gordonia* sp. H19 y *Rhodococcus* sp. F27, 20 y P18. Se empleó *Luria Bertani* como medio de producción suplementado con 500 mg/L de triptófano, y se tomaron muestras a las 24 y 48 h de cultivo. Los sobrenadantes libres de células de cada cepa se concentraron 15 veces en un concentrador al vacío, y se analizaron por RP-HPLC con una columna C18 y un detector UV visible con arreglo de diodos. Por otra parte, se cuantificó la capacidad de formación de biofilm en ausencia y en presencia (15 µg/mL y 150 µg/mL) de melatonina exógena, empleando microplacas Polysorp (superficie hidrofóbica) y Maxisorp (superficie hidrofílica). La cuantificación del biofilm formado se realizó por coloración con cristal violeta y mediciones de densidad óptica a una longitud de onda de 570 nm. Los datos obtenidos se evaluaron estadísticamente con el modelo lineal general de análisis de la varianza.

Resultados: En *Gordonia* sp. H19 y *Rhodococcus* sp. F27 se observaron picos con tiempo de retención de 27,02 min con un espectro similar al estándar de melatonina, estimándose en base a una curva de calibración externa una concentración de 60,07 µg/mL y 74,40 µg/mL respectivamente. En SLC del resto de los microorganismos no se detectó dicha sustancia. La formación de biofilm fue significativamente diferente en las cepas bacterianas evaluadas y en presencia de diferentes concentraciones de melatonina. Los mayores valores promedios de DO a 570 nm se evidenciaron en *Rhodococcus* sp. F27. En *Rhodococcus* sp. F27, la presencia de 15 µg/mL de melatonina exógena favoreció significativamente la formación de biofilm en el soporte hidrofóbico. En *Gordonia* sp. H19, se observó un efecto positivo no significativo de la presencia de 15 ó 150 µg/mL de melatonina sobre la formación de biofilm en el soporte hidrofílico.

Conclusiones: Los resultados obtenidos constituyen un avance significativo en el estudio de la producción bacteriana de melatonina, que representa un compuesto bioactivo con potenciales aplicaciones farmacéuticas.

VI 203

1004 - ANÁLISIS DE LAS DOSIS DE ESTERILIZACIÓN POR RADIACIÓN APLICADAS A PRODUCTOS MÉDICOS

VOGT, María Verónica | ALFARO, Laura | LIRES, Carla | PACHADO, Jose | HORAK, Celina

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. CENTRO ATÓMICO EZEIZA. COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA.

Introducción y Objetivos: La radiación con fines de esterilización comenzó a fines de los años 50 y desde entonces los cambios y exigencias del mundo hicieron que su desarrollo fuera exponencial. En Argentina se cuenta con 3 instalaciones de irradiación, que permiten obtener productos médicos (PM), cosméticos, fármacos, alimentos, nutracéuticos y aloinjertos seguros. La energía absorbida durante el tratamiento con radiación ionizante permite generar cortes en las cadenas de ADN de bacterias, hongos, virus y esporas, generando su inactivación. En el Laboratorio de Microbiología del Centro Atómico Ezeiza se realiza la determinación de la dosis mínima de esterilización (DME), y el objetivo de este trabajo es exponer y analizar la evolución en las DME determinadas para PM durante los últimos 15 años.

Materiales y Métodos: Los PM analizados incluyeron implantes dentales, gasas, prótesis, tornillos e hidroxiapatita entre otros. La DME se puede determinar para un único lote o se puede validar para un producto o familia de productos, analizando 3 lotes. Primero se realiza el análisis de la carga biológica (CB) (ISO 11737-1). El método de recuperación se puede validar por repetitivas recuperaciones de la CB presente en el producto, o por la recuperación en un producto inoculado con un número conocido de microorganismos. Posteriormente

se selecciona y evalúa el método de esterilización en función de dicha CB y la comprobación de la radioresistencia de los microorganismos (ISO 11137-2, ISO/TS 13004, AAMI 37).

Resultados: En base a los resultados obtenidos, la validación del método de recuperación generó un factor de recuperación que en los PM analizados varió entre 1,1 para implantes dentales, y 6,45 para los cepillos con esponja quirúrgicos. En los últimos 15 años se ha observado una gran variación en las DME requeridas para PM, las cuales estuvieron entre 15 kGy y 35 kGy. En el año 2004 el 100% de los productos analizados requirieron una DME de 25 kGy. Sin embargo, las mejoras en las condiciones de elaboración de los dispositivos médicos, la implementación de buenas prácticas de fabricación de PM, salas limpias clasificadas y nuevos métodos, hicieron que cada año se requirieran dosis menores siendo la más utilizada la de 15 kGy, que desde el 2015 supera el 60% de los lotes analizados. A partir de ese mismo año, la implementación de la ISO 13004 permitió ampliar los métodos disponibles, contando con la convalidación de 7 nuevas dosis, 3 entre 15 kGy y 25 kGy, y 4 dosis superiores, que servirían para artículos que posean una CB superior.

Conclusiones: La esterilización es parte del proceso de fabricación de los PM y su esterilidad es fundamental porque estarán en contacto con tejidos u órganos, y en algunos casos deben permitir el crecimiento celular. Gracias a las mejoras en los procesos de fabricación (que resultan en productos con baja CB) y a los nuevos métodos disponibles, se pueden obtener PM estériles aplicando una menor dosis de radiación, lo que evitaría modificaciones en las propiedades de los materiales constitutivos.

XIV Congreso Argentino de Microbiología General (XIV SAMIGE)

Presentaciones Orales

Presentaciones orales SAMIGE 1

Microbiología ambiental y del suelo, Biodiversidad

Miércoles 25 de septiembre
15:00 – 16:30 h
Sala E

Oral SAMIGE MI 1

0263 - EFECTO DE LA PRESENCIA DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO INDUSTRIAL SOBRE UN ARROYO EN EL PARTIDO DE MORENO, PCIA DE BUENOS AIRES: SELECCIÓN DE BIOMARCADORES MICROBIANOS DE CONTAMINACIÓN

ALMASQUE, Facundo J. | BERNAL REY, Daissy | IBARRA, Jose G | MENENDEZ HELMAN, Renata | LOPEZ, Nancy I | RAIGER IUSTMAN, Laura J.

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET

Introducción y Objetivos: En la localidad de Cuartel V, partido de Moreno, Buenos Aires, un cuerpo de agua, afluente al arroyo Las catonas, se encuentra lindero a una planta de tratamiento industrial (PTI). Las aguas de este arroyo son utilizadas tanto para el riego de huertas de producción intensivas como para recreación por lo que su contaminación se ha vuelto un problema de salud, económico y social. El objetivo del trabajo fue determinar la influencia de la PTI sobre la microbiota de este arroyo

Materiales y Métodos: Se analizó la diferencia entre la comunidad microbiana de un sitio río arriba de la PTI (R) y dos sitios río abajo: PL inmediatamente adyacente a la planta, y AB a 200 m río abajo de PL. Los muestreos se realizaron en invierno y primavera de 2017 en los sitios R y PL y en verano y otoño de 2018 en los sitios R, PL y AB. Las muestras fueron conservadas a 5°C hasta su procesamiento dentro de las 24 hs. El DNA total fue extraído utilizando el kit DNeasy® PowerWater® (QIAGEN) y se secuenció la región V1-V3 del gen 16S rRNA por Illumina my-seq. Los datos obtenidos se analizaron mediante la plataforma QIIME y los análisis estadísticos (CCA e IndVal) con Rstudio. Asimismo se tomaron datos de diferentes variables fisicoquímicas de manera de poder dilucidar cuáles serían las responsables de las diferencias encontradas en los distintos microbiomas.

Resultados: Se observó que los *phyla Proteobacteria* y *Bacteroidetes* son los predominantes en todas las muestras, donde en conjunto superan el 50%, en especial en las muestras PL y AB. En las estaciones cálidas, *Verrucomicrobia* y *Actinobacteria* se encuentran presentes en mayor proporción en R que en ambas muestras río abajo. El *phylum* oligotrófico *Armatimonadetes*, cuya temperatura óptima es de 20°C a 40°C se encontró únicamente en las muestras R en primavera. En las muestras PL y AB se detectó la clase *Epsilonproteobacteria* independientemente de la estacionalidad. Para determinar los géneros representativos de cada sitio se utilizó el programa IndVal. Los géneros *Acidovorax*, *Aquabacterium*, *Simplicispira*, *Hydrogenophaga*, y *Arcobacter* serían representativos de PL, mientras que para el sitio R la familia *Sporichthyaceae* fue el más representativo. Por medio del estudio de componentes principales se obtuvo que las diferencias químicas posiblemente relacionadas con la presencia de la planta de tratamiento serían los componentes que mejor explicarían las diferencias en los microbiomas de los sitios río arriba y río abajo de la PTI. La temperatura sería el factor determinante en las diferencias entre las muestras de estaciones cálidas y frías.

Conclusiones: Los resultados indican que la planta de tratamiento de residuos industriales aledaña al arroyo representaría un factor de contaminación evidenciada por la presencia de clases microbianas específicas como las *Epsilonproteobacteria* y el cambio en el microbioma general. Por otro lado, la estacionalidad influenciaría también en la estructura del microbioma pero en menor medida.

Oral SAMIGE MI 2

0815 - EFECTO DE DOS SISTEMAS DE LABRANZA EN LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS Y CONTENIDO DE NITRÓGENO EN SUELOS DE VIÑEDOS DE LA PROVINCIA DE SAN JUAN

NAVAS KALUZA, María Daniela | MEDINA, Emilce Mariel | PAROLDI, Héctor Emilio | VÁZQUEZ, Fabio

IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ

Introducción y Objetivos: Los suelos de San Juan se caracterizan por su fragilidad, carencia de perfiles definidos, bajo contenido de materia orgánica, susceptibilidad a degradación. Esto, sumado a las condiciones climáticas estresantes, limitan la actividad microbiana del suelo. Las actividades agrícolas impactan en las propiedades del suelo afectando su dinámica. La tendencia actual en estos ambientes, es adquirir estrategias de manejos que incrementen o preserven la funcionalidad edáfica. Para ello, se utilizan indicadores de calidad de suelo mediante los cuales se puede evaluar la productividad del sistema. Los indicadores microbiológicos, como las actividades enzimáticas que secretan los microorganismos edáficos, son muy sensibles a cambios en este ecosistema y, a corto plazo, son valiosos para informar sobre la calidad del suelo. En San Juan, la actividad agropecuaria principal es la viticultura y al ser este un cultivo perenne, es necesario evaluar qué manejos agrícolas del suelo favorecen la actividad microbiana y su potencial nutricional. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de diferentes sistemas de manejo agrícola de viñedos, labranza mínima (LMín) y orgánica (LOrg), sobre las actividades de las enzimas β-glucosidasas (β-gluc), fosfatasas ácidas (Fac) y alcalinas (Fal) y el contenido de nitrógeno (N).

Materiales y Métodos: El diseño de muestreo fue en bloques al azar con 6 repeticiones. Se tomaron muestras de suelo de cultivo de *Vitis vinífera* L. de los primeros 10cm de suelo, en los meses de abril y noviembre correspondientes a los años 2013 y 2014. Se seleccionaron dos micrositios: 6 filas (F) y 6 interfilas (IF) del cultivo en dos sistemas de manejo agrícola: LOrg, en la que se agregan restos de poda sobre las interfilas del viñedo y se realiza labranza tradicional sin uso de agroquímicos; y LMín, donde no se incorporan enmiendas y sí se usan agroquímicos, aunque prácticamente no ocurre la remoción del suelo. De cada una de las F e IF se tomaron 6 submuestras, las cuales se homogeneizaron posteriormente para ser analizadas en laboratorio. El N se determinó mediante el método de digestión de Kjeldahl y las actividades de las enzimas β-gluc, Fac y Fal, mediante la técnica colorimétrica de DNS. Se realizó un análisis de componentes principales para el análisis de datos.

Resultados: El análisis de los resultados de este trabajo mostró que las variables β-gluc, Fac y Fal se asociaron a las IF bajo LOrg, mientras que el N no se asoció a ningún micrositio. Sin embargo, el N presentó asociaciones positivas a las actividades enzimáticas bajo estudio. Ninguna variable se asoció a los micrositios correspondientes al manejo bajo LMin.

Conclusiones: Esto sugiere que, para el caso de los suelos estudiados, la realización de labranza tradicional y el agregado de restos orgánicos al suelo incrementan la actividad de las enzimas β-gluc, Fac y Fal, ya que estas variables se asociaron las IF bajo de LOrg donde se realiza este manejo. Asimismo, dichas actividades enzimáticas, se relacionarían al contenido de N.

Oral SAMIGE MI 3

0850 - METANÓTROFOS EN RESIDUOS ORGÁNICOS BIOLÓGICAMENTE ESTABILIZADOS PARA SU POTENCIAL USO COMO COBERTURA FINAL DE RELLENO SANITARIO

TESORIERO, María Florencia [1] | FONTANA, María Paula[2] | GUILLOT, Joaquín[2] | BEHRENDS - KRAEMER, Filipe[3] | ALTINA, Melisa[2] | PONTIGGIA, Rodrigo[2] | ERIJMAN, Leonardo[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (INGEBI) [1]; INVESTIGACIÓN, DESARROLLO E INNOVACIÓN, BENITO ROGGIO AMBIENTAL [2]; CÁTEDRA DE MANEJO Y CONSERVACIÓN DE SUELOS. FACULTAD DE AGRONOMÍA, UBA-CONICET [3]

Introducción y Objetivos: Los rellenos sanitarios son una de las principales fuentes de emisiones antropogénicas de gases de efecto invernadero. Cuanta más materia orgánica contienen los residuos del relleno, mayor es su potencial de generación de metano. En Argentina, la separación de residuos es una práctica muy poco difundida, y los rellenos sanitarios son el destino principal de los residuos sólidos urbanos (RSU). Una opción para disminuir la carga orgánica en los rellenos es el Tratamiento Mecánico Biológico (TMB), que consiste en una primera etapa de separación mecánica de los RSU, y estabilización biológica de la fracción orgánica en condiciones aeróbicas. El objetivo de este trabajo es evaluar la potencialidad de utilizar el material proveniente de TMB (bioestabilizado) como cobertura final de rellenos sanitarios, y específicamente estudiar la dinámica de microorganismos responsables de oxidar metano.

Materiales y Métodos: El material analizado proviene de la separación mecánica de residuos sólidos en TMB del Complejo Ambiental Norte III (< 80 mm) y de la estabilización biológica. El bioestabilizado fue dispuesto en una pila y luego se utilizó como cobertura final en un área de 500 m^2 en un módulo cerrado de relleno sanitario (diciembre 2017). Se realizaron muestreos de la cobertura en enero, abril, julio y octubre de 2018, tomando 9 puntos al azar en el área asignada, en profundidades de 0-10 cm y 10-20 cm. Los puntos se agruparon en 4 sectores según profundidad y ubicación de la parcela. Se aplicaron ensayos estándares de medición de materia seca del material (MS), pH, e índice respirométrico a 4 días (IR4) para cuantificar materia orgánica biodegradable. Además, se extrajo y se purificó el ADN .Se cuantificaron por qPCR las bacterias metanotróficas

utilizando el gen que codifica para la enzima metano monooxigenasa (pmoA) y las bacterias totales utilizando el gen que codifica para la subunidad menor del ARN ribosomal. Como control se cuantificaron bacterias nitrificantes, utilizando el gen que codifica para la enzima que cataliza la oxidación de amonio (amoA).

Resultados: Según el IR4 medido, el material se estabiliza después de 1 mes de aplicado, al disminuir hasta un valor de (1,5±0,4) mg CO_2/g MS en abril. La qPCR reveló una distribución uniforme de copias de 16S entre los 4 sectores y 4 tiempos, de (1x10ˆ10±5x10ˆ8) copias/g MS. La cuantificación de pmoAaumentó entre enero y julio de (1x10ˆ7±4x10ˆ6) a (3x10ˆ8±5x10ˆ7) copias/g MS presentando variación entre sectores, hasta octubre, donde se establece un valor de (6x10ˆ7±8x10ˆ6) copias/g MS sin diferencia significativa entre sectores (p-valor>0,05 en test de Mann-Whitney). La cuantificación de amoA no siguió una tendencia similar a la de pmoA.

Conclusiones: El bioestabilizado estudiado disminuyó su materia orgánica biodegradable en los primeros meses de su aplicación y presentó una población de metanótrofos creciente a lo largo del tiempo de muestreo, llegando hasta el orden del 1% con respecto a bacterias totales.

Oral SAMIGE MI 4

1010 - REDUCCION DE LA CONCENTRACION DE NITRATO EN AGUAS SUBTERRANEAS POR DESNITRIFICACION BIOLOGICA

DOTTO, Cristian [1] | SCOLARI, Fernando[2] | ERIJMAN, Leonardo[1] | FIGUEROLA, Eva[1]

INGEBI [1]; AYSA [2]

Introducción y Objetivos: Gran parte de nuestro país usa fuentes de agua subterránea (AS) para consumo humano. Diferentes actividades antrópicas contaminan las aguas freáticas con NO3- que pueden ser nocivos para la salud. La desnitrificación biológica (DB) es un proceso que implica la reducción secuencial de NO3- a N2 vía las enzimas reductasas de NO3-, NO2-, NO y N2O, con las ventajas de no generar subproductos y gran recuperación de agua. Su eficiencia depende de los microorganismos, la fuente de C, la relación C/N y del material soporte sobre el que las bacterias autóctonas responsables del proceso forman una biopelícula. En ciertas condiciones, la DB compite con la reducción desasimilatoria de NO3- a NH4+ (RDNA). Los objetivos de este trabajo son: fijar condiciones que permitan la DB de AS disminuyendo la concentración de NO3- por debajo del límite permitido sin acumular intermediarios, y caracterizar la comunidad bacteriana involucrada en el proceso.

Materiales y Métodos: Se compararon 3 soportes, arena (A), carbón activado y carriers plásticos en ensayos en batch usando acetato de sodio como fuente de C y suplementando con P. La relación C/N y la fuente de C (acetato o etanol) se estudiaron en biorreactores semicontinuos a escala de laboratorio, alimentados con AS suplementada con fuente de C y P, usando A como soporte. Los niveles de NO3-, NO2- y NH4+ se cuantificaron por espectrofotometría. El ADN metagenómico se extrajo con un kit comercial. La comunidad desnitrificante se caracterizó por DGGE de los genes de ARNr (16S) y de NO2- reductasas nirS y nirK, y cuantificó por PCR de tiempo real. Los aislamientos bacterianos se obtuvieron de los granos de arena colonizados incubados anaeróbicamente en placas de AS-agar suplementadas con nutrientes y su capacidad desnitrificante por punción de los mismos en tubos con el mismo medio de cultivo y observación de formación de gas.

Resultados: A partir de incubaciones en batch se eligió la A como soporte más adecuado para el proceso de DB. Ambas fuentes de C fueron apropiadas para la DB sin competencia de la RDNA obteniéndose valores aceptables para agua de consumo ([N-NO3-]<10 mg/l, [N-NO2-]<30 µg/l y [N-NH4+]<0,2 mg/l). Se estimó el tiempo de arranque del reactor como 208 tiempos de retención hidráulica. Los perfiles moleculares evidenciaron cambios en la diversidad y abundancia de genes 16S, nirS y nirK en el tiempo, sugiriendo una sucesión de especies que comienza con poblaciones capaces de realizar el primer paso de DB, aumentando luego la abundancia de otras capaces de reducir NO2-. Se aislaron bacterias capaces de acumular NO2- o formar gases, que estarían involucradas en la DB.

Conclusiones: Se fijaron condiciones que permiten la DB alcanzando niveles de NO3- muy inferiores al límite permitido sin acumulación de NO2- o NH4+. Se evidenciaron cambios en la estructura de la comunidad bacteriana en el tiempo y se obtuvieron aislamientos que estarían involucrados en la DB. Esta información permite fijar parámetros operacionales necesarios para el escalado del proceso.

Pósters

Presentación de pósters SAMIGE 1

Miercoles 25 de septiembre

13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

SAMIGE - Biorremediación y Biocontrol

MI 201
0035 - CEPAS FÚNGICAS TOLERANTES AL ARSÉNICO PARA REMOCIÓN EN AGUA

BEDOGNI, Giselle Rocio | **PELLIZZARI, Esther Edith**

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA GENERAL. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL

Introducción y Objetivos: En la provincia del Chaco, parte del agua disponible para la población se encuentra en forma subterránea, mayoritariamente contaminadas con arsénico. El objetivo de este trabajo fue cuantificar la cantidad de arsénico removido utilizando biorreactores con cultivo flotante de biomasas fúngicas, con solución de As.

Materiales y Métodos: Las cepas fueron aisladas de agua de pozos, perforaciones y aljibes de uso doméstico, de la localidad de Presidencia Roque Sáenz Peña, Chaco. Se aisló mediante siembra en superficie de 500 µl de las muestras de agua en Sabouraud Cloranfenicol Agar (SCA). Se incubó a 3°C y 48 horas. Se generaron cultivos monospóricos en Papa Dextrosa Agar (PDA) a partir de las colonias desarrolladas en SCA. Se calculó los Índices de Tolerancia (TI) de las cepas aisladas con los valores de crecimiento radial de las colonias en PDA suplementado con 1000 ppm de arseniato de sodio a los 7 días de incubación a 37°C. Se utilizaron las cepas con valores de TI mayores a la media.

Resultados: A partir del desarrollo microbiológico en SCA, se generaron 15 cultivos monospóricos. Las cepas fúngicas tolerantes al As correspondieron a: *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium sambucinum*, *Penicillium italicum* y *Fusarium poae*. Para el estudio de remoción, se preparó caldo (%p/v): glucosa 0.4 %, peptona microbiológica 0.2 %, cloruro de sodio 0.2 %) empleando soluciones de Arseniato de sodio a concentraciones de 1 ppm y 1000 ppm, se esterilizó en autoclave a 120°C por 15 minutos. Se inocularon los caldos con conidios monospóricos tolerantes, a 37°C, se tomaron muestras a las 24, 72, 96, 120 y 360 horas. Para determinar la concentración de $As^{+}5$ en la biomasa después de cada tiempo de incubación, se adicionó una mezcla oxi-acídica de ácido nítrico, ácido sulfúrico y peróxido de hidrogeno, en proporción 4:1:1, se calentó a 80°C, durante 3 horas. Se enfrió y adicionó 20 ml de agua destilada, se calentó a 140°C, durante 4 horas, se adicionó agua destilada hasta volumen final de 25 ml. Los porcentajes finales de remoción, a las 360 horas fueron: 70% *A. niger*, 10% *R. oryzae*, 10% *F. oxysporum*, 60% *F. avenaceum*, 50% *F. sambucinum*, 23% *P. italicum* y 20% *F. poae*. Las determinaciones de $As^{+}5$ en biomasa fueron 0.10 mg/l para *R. oryzae*, 0.70 mg/l para *A. niger* y 0.25 mg/l para *P. italicum*. La remoción se produce en la biomasa utilizando mecanismos de acumulación en el citoplasma y de reducción extracelular del toxico. En las cepas que no se pudo detectar la presencia de $As^{+}5$, el posible mecanismo puede ser la biovolatilización.

Conclusiones: Al comparar los porcentajes de remoción obtenidos se pudo determinar que *A. niger* es el mejor candidato, dentro de las especies analizadas, para futuras aplicaciones en procesos de remoción de arsénico en aguas subterráneas mediante técnicas de bioadsorcion. Mientras que si el objetivo, por razones de bioseguridad, es la obtención de enzimas resulta de interés el estudio de las enzimas responsables de la biovolatilizacion presentes en las cepas de *Fusarium*. Los resultados obtenidos por biovolatilización, concuerdan con trabajos, donde se indican que algunas especies de *Fusarium* realizan principalmente la volatilización de As^+5, pudiendo ser este el mecanismo utilizado en la remoción de As. Mientras que *Penicillium* producen la biometilación y acumulación intracelular. *R. oryzae* realiza una reducción a As^+3 y luego lo inmoviliza generando la acumulación de arsénico. *A. niger* realiza la bioadsorción de arsénico, 2017, permitiendo remover grandes cantidades del arsénico en solución.

MI 202
0037 - ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS BIOSURFACTANTES PRODUCIDOS POR DOS CEPAS DE *PSEUDOMONAS* EN LA DEGRADACIÓN DE DIÉSEL EN MICROCOSMOS DE SUELO

JACOBY, Maria Del Rosario | LOPEZ, Nancy I | RAIGER IUSTMAN, Laura J.

DEPARTAMENTO QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA

Introducción y Objetivos: La contaminación por hidrocarburos es un problema ambiental cada vez más preocupante siendo la biorremediación uno de los métodos de elección empleados para su tratamiento. Sin embargo, uno de los factores limitantes en su éxito es la baja biodisponibilidad de numerosas fracciones del

petróleo. La Biorremediación Mejorada con Surfactantes (BMS) es una técnica de bioestimulación que permite mejorar la disponibilidad de los hidrocarburos y otras sustancias hidrofóbicas y consiste, habitualmente, en la adición de surfactantes no biodegradables. En nuestro laboratorio se han aislado 5 cepas capaces de sintetizar compuestos tensioactivos, de los cuales los producidos por *Pseudomonas* sp. MM y *Pseudomonas* sp. ML fueron los que presentaron un mejor desempeño en cuanto a la disminución de la tensión superficial y la capacidad emulsificante. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de los compuestos tensioactivos producidos por *Pseudomonas* sp. MM y *Pseudomonas* sp. ML en la biodegradación de hidrocarburos llevados a cabo en microcosmos de suelo.

Materiales y Métodos: Las cepas bacterianas fueron cultivadas en medio mínimo con suplementado aceite de girasol durante 48 hs para luego obtener por centrifugación los sobrenadantes libres de células. Estos sobrenadantes fueron acidificados a pH 2 con HCl y luego de una centrifugación, los pellets conteniendo los biosurfactantes fueron resuspendidos en buffer TRIS-HCl 0.1mM PH 8 y sometidos a una partición con acetato de etilo. La fracción orgánica fue colectada y posteriormente liofilizada para obtener los extractos crudos ML (EC-ML) y MM (EC-MM). De cada extracto crudo se obtuvo la concentración micelar crítica (CMC). Para los ensayos de BMS se construyeron microcosmos con 10 g de tierra obtenida de un sitio crónicamente contaminado de la localidad del Cuartel V, Partido de Moreno, Bs. As., suplementado con 10% de diésel. Para analizar el efecto EC-ML y EC-MM se agregó a los microcosmos correspondientes el equivalente a 2 CMC. El diésel remanente se midió a los 30 días por cromatografía gaseosa.

Resultados: El ensayo de CMC dio un valor de 612 ± 8 µg/ml y 317 ± 11 µg/ml para EC-ML y EC-MM respectivamente, por lo que éste último resultaría ser más eficiente. En los ensayos en microcosmos de suelo, se observó que el agregado de EC-MM incrementó significativamente la degradación del diésel respecto al control en un 47% ($P < 0,001$) mientras EC-ML produjo un aumento de la degradación del 13% respecto al control (P: 0,24).

Conclusiones: En conclusión, se observó que el efecto del agregado de los biosurfactantes obtenidos mejora la degradación de los alcanos que conforman el diésel, por lo que biorremediación mejorada a través del agregado de los mismos es una posible alternativa para tratar suelos contaminados con hidrocarburos.

MI 203

0067 - APORTES EN LA ELUCIDACIÓN DE LA RESPUESTA PROMOVIDA POR *GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS* COMO BIOCONTROLADOR DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* GMI1000

SREBOT, Maria Sol [1] | RODRIGUEZ, María Victoria[1] | ANSALDI, Nazarena[1] | TANO, Josefina[2] | CARRAU, Analía[2] | FERNANDEZ, Armando Eduardo[1] | MARTÍNEZ, María Laura[1] | CORTADI, Adriana Amalia[1] | ORELLANO, Elena Graciela[2]

FARMACOBOTÁNICA, ÁREA BIOLOGÍA VEGETAL-CONICET, FACULTAD DE CS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNR [1]; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) [2]

Introducción y Objetivos: *Gluconacetobacter diazotrophicus (Gd)* es una bacteria endófita promotora del crecimiento vegetal (PGPBEs). La asociación planta-PGPBE beneficia a la planta hospedadora mediante la fitoestimulación, biofertilización y protección contra patógenos. *Ralstonia solanacearum (Rso)* es la bacteria responsable de la marchitez bacteriana en tomate, y causa enormes pérdidas económicas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción de *Gd*PAL5 como agente de biocontrol evaluando los mecanismos antagónicos de esta bacteria durante el estrés biótico producido por *Rso* GMI1000.

Materiales y Métodos: La motilidad bacteriana es de importancia en el proceso de colonización de la planta por parte del endófito, por eso se ensayaron las motilidades tipo *swimming*, *swarmming* y *twiching* en placas de Petri con medio LGI-P con concentraciones diferentes de agar y se observó la migración de las bacterias y la morfología de los bordes de las colonias. Los ensayos de biocontrol se realizaron mediante estudios *in vivo* e *in vitro*. Plantas de *Arabidopsis thaliana* Col0 se inocularon con 10^6 UFC/mL de *Gd*, luego de 3 semanas, se inocularon por raíz con 10^6 UFC/mL de *Rso*. Luego de 12 días: I- Las plantas se esterilizaron superficialmente y extractos de los distintos órganos se sembraron en medios selectivos para cada bacteria. II- Se tomaron muestras a distintos días post inoculación con *Gd* y *Rso*, se fijaron en FAA, cortaron y tiñeron con safranina-*fast green* y azul de toluidina (1%). III- Se cuantificó colorimétricamente el contenido de clorofila a y clorofila b en hojas de plantas sometidas a distintos tratamientos. Además, se buscaron posibles compuestos antimicrobianos mediante experimentos *in vitro* ensayando la actividad antibacteriana de fracciones de cultivo de la bacteria endófita (medio extracelular, contenido celular y cultivo bacteriano), con la técnica de superposición con soft agar.

Resultados: Bajo las condiciones ensayadas *Gd* presentó motilidad tipo *swarming*, que le permite una migración rápida y coordinada, que junto a la producción de exopolisacáridos juegan un rol sustancial en la interacción con la planta. Los ensayos de biocontrol in vivo muestran: a) estructuras anatómicas del tallo más conservadas en plantas con *Gd* evidenciándose aumento de xilema, mayor lignificación y mayor cantidad de tejido esclerosado entre los haces vasculares; b) técnicas histoanatómicas y los resultados de recuentos

bacterianos revelaron mayor proliferación del fitopatógeno en plantas no tratadas con *Gd*; c) A su vez, se observó una concentración menor de pigmentos en plantas no inoculadas con *Gd*. En los ensayos *in vitro* se evidenció actividad antagonista de la fracción celular del cultivo de *Gd* contra *Rso*.

Conclusiones: Los resultados del presente trabajo muestran que *Gd* coloniza las plantas de *A. thaliana* ejerciendo un rol protector frente a *Rso*.

MI 204

0072 - CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA Y GENÉTICA DEL ANTAGONISMO ANTE EL HONGO FITOPATÓGENO *MACROPHOMINA PHASEOLINA*, EN EL AISLAMIENTO NATIVO SVBP6 PERTENECIENTE A LA NUEVA ESPECIE *PSEUDOMONAS DONGHUENSIS*.

MUZIO, Federico Matías | AGARAS, Betina | VALVERDE, Claudio

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET

Introducción y Objetivos: El desarrollo y formulación de nuevos inoculantes bacterianos constituye una sólida estrategia a la hora de mejorar la productividad agrícola de la región y disminuir el impacto ecológico debido al uso de pesticidas. En esta línea, nuestro laboratorio obtuvo una colección de aislamientos bacterianos del género *Pseudomonas* provenientes de lotes agrícolas de la región. Entre ellos se destaca el aislamiento SVBP6, perteneciente a la especie *Pseudomonas donghuensis*, por su amplio espectro de antagonismo fúngico. Sin embargo, el genoma de SVBP6 carece de los determinantes genéticos asociados al control biológico de otras especies de *Pseudomonas*, como los clusters génicos para la producción de diacetilfluoroglucinol, fenazinas o lipopéptidos (Agaras *et al* 2018, doi:10.1016/j.apsoil.2011.11.016). Esto vuelve a SVBP6 un candidato interesante para la identificación de nuevas moléculas o mecanismos intervinientes en el antagonismo de hongos fitopatógenos en el suelo. El objetivo de este trabajo ha sido caracterizar fisiológica y genéticamente la producción del/de los factor/es determinantes del antagonismo fúngico en SVBP6.

Materiales y Métodos: Mediante mutagénesis al azar mediada por transposón Tn*5* se obtuvo una colección de aproximadamente 60 mutantes de la cepa SVBP6, seleccionados a partir de la pérdida de capacidad antagonista frente al hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* 131.2010. Llamativamente, se detectaron 6 inserciones localizadas en un mismo clúster génico, cuya región homóloga ha sido descripta en el aislamiento *P. donghuensis* HYS como relacionado a la biosíntesis de 7-hidroxitropolona (7-HT) (Chen *et al* 2018, doi:10.1128/JB.00087-1). Con estos mutantes y la versión salvaje, se realizaron cultivos líquidos en medio King's B, cuyo espectro de absorbancia UV-visible fue analizado. El sobrenadante del cultivo fue utilizado para realizar extracciones en acetato de etilo y ensayos de antagonismo vs *M. phaseolina* 131.2010, adicionando el sobrenadante y/o extracto a agar papa dextrosa.

Resultados: Constatamos que el sobrenadante libre de células de SVBP6 en fase exponencial tardía retiene la actividad antagonista de hongos y posee picos de absorción UV compatibles con los de 7-HT, en contraste a todos los mutantes Tn*5* del cluster identificado, los cuales revelaron una marcada reducción de los picos UV correspondientes, sugiriendo una asociación entre los genes interrumpidos en los mutantes, el antagonismo a *M. phaseolina* y la producción de 7-HT por parte de SVBP6. La producción de al menos un compuesto compatible con 7-HT se activa en fase exponencial media en medio King's B, alcanzando un máximo en la fase exponencial tardía. Se logró extraer la actividad antagonista y su patrón de absorción UV, siendo este extracto capaz de restaurar el antagonismo en un sobrenadante de un mutante Tn*5* incapaz de producir 7-HT. La capacidad del extracto conteniendo 7-HT de disminuir el crecimiento de *M. phaseolina* resultó directamente proporcional a la dosis ensayada.

Conclusiones: Los resultados obtenidos indican que el aislamiento *P. donghuensis* SVBP6 produce al menos una molécula relacionada a 7-HT, que es un factor preponderante del antagonismo *in vitro* ante *M. phaseolina*, lo cual podría replicarse en el antagonismo por parte de SVBP6 a otros hongos fitopatógenos.

MI 205

0107 - PERFIL PROTEÓMICO DEL HONGO DE PUDRICIÓN BLANCA *PLEUROTUS SAJOR-CAJU* LBM 105 EN CONDICIONES DE REMOCIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS Y SU IMPLICANCIA COMO AGENTE BIORREMEDIADOR

CHELALICHE, Anibal Sebastian | ALVARENGA, Adriana Elizabet | ZAPATA, Pedro Dario | FONSECA, Maria Isabel

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES

Introducción y Objetivos: Los bifenilospoliclorados (PCBs) son compuestos químicos compuestos de una molécula de bifenilo con 1 a 10 sustituciones de cloro. Estos compuestos fueron ampliamente utilizados en el ámbito industrial desde 1930. Como consecuencia de su uso, grandes cantidades de PCBs han sido distribuidos en el ambiente lo que representa una amenaza para el ecosistema. Los hongos de pudrición blanca, han sido ampliamente utilizados en procesos de remediación para degradar varios congéneres de PCBs. El basidiomycete *Pleurotus sajor-caju* ha demostrado una excelente resistencia a los Aroclores 1242, 1254 y 1260; y una alta tasa de remoción de los mismos en medio líquido, llegando a obtenerse porcentajes de remoción de hasta 98%. Aunque la capacidad de los hongos de pudrición blanca para remover xenobióticos ha sido ampliamente documentada existe poco conocimiento acerca de las enzimas ocupadas por el hongo para poder degradarlos. En este estudio, se analizaron comparativamente los proteomas de la cepa de *P. sajor-caju* LBM105 en medios de cultivo líquidos deficiente de nitrógeno tanto en presencia como en ausencia de los aroclores 1242, 1254 y 1260, buscando encontrar las posibles enzimas involucradas para remover estos compuestos contaminantes.

Materiales y Métodos: Para la obtención de las proteínas abundantes durante la degradación de los PCBs se procedió a incubar 20 ml de medio de cultivo sintético líquido deficiente en nitrógeno de glucosa-asparagina suplementado con una solución de 200 ppm de PCBs conteniendo una mezcla de los Aroclores 1242, 1254 y 1260. Paralelamente se evaluó la situación control sin el agregado de la solución de PCBs. El micelio fúngico obtenido de *P. sajor-caju*obtenido que fue expuesto a los bifenilospoliclorados fue lavado mediante 3 lavados con acetona. La ruptura celular se realizó mediante la utilización de nitrógeno líquido en presencia de buffer de extracción. El extracto obtenido fue reducido, alquiladoy precipitado. Las proteínas obtenidas fueron tratadas con Tripsina y analizadas por nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masas Q-Exactive.

Resultados: De las proteínas identificadas que se mostraban significativamente sobre-expresadas se destaca la presencia de reductasas de cadena corta, aldo-ceto reductasas, galactosa oxidasas, peroxidasas, lacasas y carboxilesterasas. En cambio, se observó una disminución en la expresión de oxilipinas, piruvato carboxilasas y chaperonas (Hsp70, DnaJ, Hsp90).

Conclusiones: Los perfiles de expresión de estas proteínas evidencian la presencia de procesos oxidativos relacionados con modificaciones en la estructura de los PCBs, posiblemente involucrando la dehalogenación de sus anillos mediada por especies reactivas del oxígeno y la reducción de sus metabolitos de degradación y del estrés oxidativo sufrido por los mismos evidenciada por la disminución de expresión de proteínas involucradas en el metabolismo del carbono y de los lípidos, que además parece afectar a la expresión de varias chaperonas.

MI 206

0118 - EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES EMITIDOS POR CEPAS DE *BACILLUS* SPP. SOBRE *ESCHERICHIA COLI*

BROUARD URIBURU, Maria Del Rosario [1] | ASENSIO, Claudia Mariana[2] | AYOUB, Ibrahim[1] | LUCINI, Enrique Iván[1] | MERLO, Carolina[2]

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [1]; INSTITUTO MULTIDISCIPLINARIO DE BIOLOGÍA VEGETAL (IMBIV-CONICET) [2]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* es una bacteria patógena causante de numerosas enfermedades, incluso de la muerte en humanos, que puede estar presente en numerosos alimentos. Por tal motivo, encontrar métodos para lograr la inocuidad alimentaria resulta de importancia. La biopreservación es un método que utiliza cultivos microbianos y sus productos para la conservación de los alimentos. Los compuestos orgánicos volátiles (COV) bacterianos han adquirido relevancia en éste último tiempo gracias a su gran bioactividad. Sin embargo, su efecto sobre las bacterias está poco investigado por lo que su uso como agentes antibacterianos resulta novedoso. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana de los COV producidos por cepas aisladas del género *Bacillus* spp. sobre *E. coli* ATCC 25922.

Materiales y Métodos: A partir de muestras de suelo agrícola provenientes del cultivo de soja y de maní, se aislaron 15 y 18 cepas de bacterias del género *Bacillus* spp., respectivamente. Para evaluar la actividad antibacteriana de los COV producidos por las cepas aisladas, se utilizaron placas divididas en dos hemicírculos por un septo para evitar el contacto directo entre las cepas. Se sembraron en un hemicírculo con agar nutritivo, previa incubación en caldo nutritivo a 30 °C durante 24 h, 10 µl de las cepas aisladas en 6 puntos y se incubaron durante 48 h a 30°C. Posteriormente se sembró, previa incubación por 24 h en caldo nutritivo a 30 °C, 5 µl de la cepa de *E. coli* ATCC 25922 en el otro hemicírculo con agar nutritivo. Se sembraron además placas control con agua destilada estéril. Las placas fueron selladas con parafilm y se dejaron incubar por 8 días consecutivos (192 h). Se midió el diámetro de la colonia, se calculó el área y el porcentaje de inhibición.La cepa que produjo mayor inhibición del crecimiento de *E. coli*, fue utilizada para realizar el conteo de UFC/mL de *E. coli* removiendo la colonia de la placa diariamente durante 7 días.

Resultados: Diez de las cepas aisladas presentaron actividad antibacteriana significativa sobre el crecimiento de *E. coli* respecto del control. La cepa M1a fue la que presentó el mayor porcentaje de inhibición, la cual alcanzó un 23% a las 24 h y un 51% a las 192 h. Además, los COV producidos por esta cepa redujeron

significativamente el número de *E. coli* con respecto al control (24 h: 8,39 log UFC/mL para el tratamiento y 10,07 log UFC/mL para el control; 168 h: 15,47 log UFC/mL para el tratamiento y 17,95 log UFC/mL para el control).

Conclusiones: Los COV emitidos por las cepas aisladas del género *Bacillus* spp. inhibieron el crecimiento y la abundancia de *E. coli*, por lo que estos compuestos presentan una alternativa promisoria para la biopreservación de alimentos.

MI 207

0619 - EVALUACIÓN DE AGENTES CON POTENCIAL PARA EL CONTROL DE CRECIMIENTO "IN VITRO" DE *ALTERNARIA ALTERNATA*.

STOCCO, Antonella[1] | TAPIA, Estefania[2] | DIAZ, Mariano[1] | LERENA, Cecilia[1] | MERCADO, Laura[3] | **PONSONE, Lorena** [4]

EEA MENDOZA INTA-CONICET [1]; FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNCUYO [2]; EEA MENDOZA INTA. FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNCUYO [3]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES (FCEN-UNCUYO) Y CONICET [4]

Introducción y Objetivos: *Vitis vinífera* cv. Red Globe es una de las variedades de uva de mesa más cultivada y exportada de Argentina. Su calidad puede verse afectada por una amplia gama de factores físicos y biológicos que limitan el ingreso a los mercados de exportación. A nivel mundial, se considera que las mayores pérdidas en postcosecha se producen por enfermedades ocasionadas por patógenos fúngicos, siendo en general de 5-25% del total de la producción, pudiendo alcanzar hasta el 50%. La presencia de Alternaria spp., principalmente A. alternata, ha sido observada durante postcosecha en uvas de mesa cv. Red Globe de Mendoza, Argentina. El tratamiento comercial usado para la conservación de uva de mesa es la aplicación de generadores de dióxido de azufre (SO2), pero su uso es cada vez más cuestionado porque sus residuos pueden causar reacciones alérgicas en los consumidores.

Materiales y Métodos: El objetivo de este estudio fue determinar, en ensayos "in vitro" usando un medio a base de agar mosto al 3%, los efectos de distintas actividades de agua (0.88, 0.95 y 0.991), de temperaturas (0, 4, 15 y 28 °C) y de sus interacciones con los posibles agentes de control biológico, *Metschnikowia pulcherrima* RCM2 (10^4 y 10^6 cel mL-1) y quitosano (0,5 y 1 % v v-1), en la fase de latencia y en la velocidad de crecimiento de una cepa de *A. alternataaislada* de uvas de mesa en la provincia de Mendoza

Resultados: Analizando el crecimiento de *A. alternata*, a 0.88 de aW no hubo desarrollo del patógeno a ninguna de las temperaturas evaluadas. La velocidad de crecimiento y la fase de latencia de A. alternata se vieron significativamente influenciadas por todas las interacciones evaluadas ($p<0.05$), siendo las condiciones menos favorables para el desarrollo del hongo las temperaturas y actividades de agua más bajas. Los porcentajes más elevados de reducción del crecimiento del hongo se observaron al aplicar RCM2 106 cel mL-1, siendo superiores al 86% a 0 °C y del 100% a las demás temperaturas. La aplicación de la mayor concentración de quitosano también arrojó resultados alentadores al reducir dicho crecimiento en ≥48% para todos los casos.

Conclusiones: En función de los resultados obtenidos se puede concluir que ambos agentes son efectivos para el control del crecimiento de *A. alternata* "in vitro". Queda por delante la evaluación de ambos agentes de control en ensayos "in vivo" en uva de mesa conservada a 0 °C e inoculada artificialmente con *A. alternata*.

MI 208

0179 - INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO DE AISLADOS CLÍNICOS MULTIRRESISTENTES A ANTIBIÓTICOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y CITOTOXICIDAD DE CONSTITUYENTES DEL FRUTO DE *PERSEA AMERICANA* (PALTA)

OSPINA MATEUS, Laura[1] | CÁCERES GUIDO, Paulo[2] | WILMAN, Delgado[3] | NELSON, Hurtado[4] | LUIS, Franco[5] | CATALINA, Van Baren[6] | **MORENO, Silvia** [7]

GRUPO EVALUACIÓN BIOLÓGICA SUSTANCIAS PROMISORIAS, FAC. CS FARMACÉUTICAS, UNIV. DE CARTAGENA [1]; GRUPO DE MEDICINA INTEGRADORA, HOSPITAL DE PEDIATRÍA GARRAHAN. [2]; LAB DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES VEGETALES, DTO DE QUÍMICA, UNIV NACIONAL DE COLOMBIA [3]; GRUPO DE INV EN PRODUCTOS DE IMPORTANCIA BIOLÓGICA, DTO DE QUÍMICA – UNIV DE NARIÑO [4]; GRUPO EVALUACIÓN BIOLÓGICA SUSTANCIAS PROMISORIAS, FAC. CS FARMACÉUTICAS, UNIV. DE CARTAGENA [5]; CÁTEDRA DE FARMACOGNOSIA-IQUIMEFA (UBA-CONICET), FFYB, UBA [6]; CEBBAD-CONICET, LAB FARMACOLOGÍA DE BIOACTIVOS VEGETALES, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES [7]

Introducción y Objetivos: El control de infecciones estafilococcales multirresistentes es un gran desafío en el ámbito de la salud. Se ha descripto que el fruto de palta (*Persea americana Mill*), además de su valor

nutricional, presenta propiedades analgésicas, anti-inflamatorias y es utilizado en la medicina tradicional en enfermedades infecciosas, aunque se conoce poco sobre sus bioactivos particulares y menos sobre su eficacia contra bacterias multirresistentes a antibióticos. En la búsqueda de nuevos compuestos antimicrobianos eficaces evaluamos extractos acetónicos y acuosos obtenidos del epicarpio y semilla de palta, así como avocatin (mezcla de avocadeno y avocadino obtenido de la pulpa) frente a tres aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* multirresistentes a antibióticos (oxacilina, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina, cefoxitina, gentamicina y levofloxacina).

Materiales y Métodos: La actividad antimicrobiana se determinó mediante el ensayo de microdilución en placa y se determinó la concentración inhibitoria mínima. Los frutos de *P. americana* fueron colectados en los departamentos de Bolívar y Nariño, Colombia. Además, el efecto citotóxico se probó sobre diversas líneas celulares de cáncer humano mediante el método de reducción metabólica del MTT y se determinó su concentración letal 50 (CL50), y su citotoxicidad, clasificándose esta última según sea: activos (CI50<20µg/mL), moderadamente activos (20<ci50100 µg/ml).</ci50

Resultados: Los resultados muestran que los extractos acetónicos de epicarpio y semilla inhibieron significativamente el crecimiento bacteriano de todos los aislados clínicos testeados (concentración mínima inhibitoria 50, CMI50 de 110-310 y 250-280 µg/mL, respectivamente) en comparación con el grupo no tratado ($P<0.05$, análisis de varianza de una vía ANOVA, seguido de la prueba de Tukey). Por su parte, Avocatin mostró mayor eficacia inhibitoria con CMI50 de 89-205 µg/mL. En cuanto al efecto citotóxico, los extractos no mostraron actividad frente a las líneas celulares de cáncer colorectal HT-29 y cáncer pulmonar H292, mientras que el avocatin afectó en forma moderada la viabilidad de ambas líneas celulares con CI50 de 34 y 60 µg/mL, respectivamente. Frente a la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231 el extracto acetónico de semilla y avocatin mostraron efecto moderado con CI50 de 42 y 44 µg/mL, respectivamente.

Conclusiones: En resumen, los extractos evaluados y el avocatin presentaron eficacia antibacteriana contra cepas multirresistentes de *S. aureus*, esta propiedad asociada a la actividad citotóxica mostrada frente a las líneas de cáncer humano, podrían ser de utilidad para enriquecer el arsenal terapéutico disponible contra patologías que actualmente cuentan con escasos recursos para su tratamiento. Por lo tanto, dichos metabolitos secundarios vegetales son promisorios para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas en el campo de la infectología y la oncología.

MI 209

0205 - DISMINUCIÓN DE LA VIABILIDAD DE AISLADOS CLINICOS DE *ESCHERICHIA COLI* MULTIRRESISTENTES A ANTIBIOTICOS LUEGO DEL TRATAMIENTO CON EL MONOTERPENO 1,8-CINEOL EN CRECIMIENTO PLANCTONICO Y EN BIOFILM

VÁZQUEZ, Nicolás Martín [1] | GALVAN, Estela Maria[2] | MORENO, Silvia[3]

CONICET-CEBBAD, LAB. FARMACOL. BIOACTIVOS VEGETALES Y LAB. PATOG. BACTERIANA, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES [1]; CONICET-CEBBAD, LABORATORIO DE PATOGÉNESIS BACTERIANA, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES [2]; CONICET-CEBBAD, LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA DE BIOACTIVOS VEGETALES, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES [3]

Introducción y Objetivos: Los biofilms son comunidades bacterianas complejas adheridas a superficies bióticas y abióticas que están rodeadas por una matriz de polímeros que les otorgan propiedades fenotípicas diferenciales asociadas con una mayor resistencia a antibióticos. En particular, las infecciones ocasionadas por *Escherichia coli* multirresistentes a antibióticos (MDR) y con capacidad para producir biofilm son un grave problema dentro del ámbito de la salud. En busca de nuevas alternativas para paliar este problema, se ha reportado que diversos metabolitos secundarios vegetales son buenos candidatos como antimicrobianos para controlar infecciones causadas por bacterias MDR. En este trabajo se abordó el efecto antimicrobiano del 1,8-cineol, uno de los principales constituyentes del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, contra aislados clínicos MDR de *E. coli* uropatogénicos.

Materiales y Métodos: Para ello, se desarrollaron cultivos planctónicos y en biofilms en medio mínimo M9 a 37°C. Se evaluó el efecto del fitoquímico durante 3 h sobre la viabilidad de células de cultivo planctónico por determinación de las unidades formadoras de colonias (UFC). Además, se investigó su efecto sobre biofilms desarrollados en placas de poliestireno de 96 pocillos durante 72 h por determinación de las UFC (viabilidad), MTS (actividad metabólica por sales de formazán) y cristal violeta (biomasa). El efecto sobre la viabilidad del biofilm se evaluó tanto en las bacterias que crecieron adheridas a la superficie como en las que se desprendieron del biofilm.

Resultados: Los resultados de viabilidad obtenidos a nivel planctónico evidenciaron que el 1,8-cineol al 1% (v/v) luego de 1 h de tratamiento disminuyó el número de células entre 3 y 5 logs en comparación con los controles no tratados. Respecto a los biofilms, el fitoquímico a la misma concentración redujo entre 20 a 60% la biomasa del biofilm preformado, mientras que la actividad metabólica disminuyó entre 90 a 95%. Además, dicho tratamiento afecto la viabilidad bacteriana tanto en las bacterias adheridas como en las desprendidas del biofilm puesto que se encontró una reducción entre 2 y 5 logs en el número de células, en comparación con los controles no tratados.

Conclusiones: En conclusión, en este trabajo se reportan los primeros hallazgos sobre la eficacia antimicrobiana del 1,8-cineol sobre cepas de *E. coli*multirresistentes a antibióticos. El compuesto mostró un claro efecto de disgregación del biofilm bacteriano preformado, así como actividad bactericida sobre células en estado planctónico y en biofilm. Estos nuevos resultados sugieren que el 1,8-cineol tiene un alto potencial para el tratamiento de infecciones asociadas con *E. coli* MDR.

MI 210

0331 - EXPRESIÓN DE TOXINAS CRY RECOMBINANTES DE *BACILLUS WIEDMANNII* BIOVAR *THURINGIENSIS* FCC41 MEDIANTE DOS METODOLOGIAS DE CLONADO

LOPEZ, Rocio de La Paz | GIL, Maria Florencia | BERÓN, Corina

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC-CONICET) Y FIBA

Introducción y Objetivos: Los agentes entomopatógenos son herramientas novedosas y con gran potencial para ser utilizadas dentro de los sistemas de manejo integrado de insectos plaga y vectores. Uno de los agentes más utilizados es la bacteria *Bacillus thuringiensis* debido a que durante la esporulación forma inclusiones proteicas, principalmente formadas por proteínas Cry, que poseen acción tóxica específica contra especies de distintos órdenes de insectos, entre los que se encuentran algunas especies de mosquitos vectores de importancia en salud pública. El manejo de las poblaciones de estos dípteros se ha realizado durante años por medio de insecticidas químicos o mediante productos formulados a base de *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis* (Bti). Sin embargo, durante los últimos años se ha observado el desarrollo de resistencia por parte de algunas poblaciones de mosquitos, por lo que la búsqueda de nuevos agentes de control es fundamental. *Bacillus wiedmannii* biovar *thuringiensis* FCC41 es una cepa nativa con actividad mosquitocida contra las especies *Aedes aegypti*, *Aedes (Ochlerotatus) albifasciatus*, *Culex pipiens*, *Culex quinquefasciatus*, y *Culex apicinus*. FCC41 posee 6 proteínas Cry identificadas como Cry4-like1, Cry4-like2, Cry52-like1, Cry52-like2, Cry24Ca y Cry41-like. El objetivo de este trabajo fue analizar la expresión individual de cada una de estas toxinas.

Materiales y Métodos: Los genes *cry* fueron amplificados mediante la técnica de PCR e incorporados en el vector de expresión específico pSTAB. Las construcciones fueron abordadas por dos metodologías de clonado diferente. Se utilizó un sistema tradicional mediante enzimas de restricción y para la proteína Cry4-like1, la cual no tiene sitios de restricción compatibles con el vector, se utilizó el método "Advanced Quick Assembly" (AQUA). Es una técnica novedosa que no requiere el uso de kit, enzimas de restricción o preparación de reactivos, la misma aprovecha el procesamiento intrínseco *in vivo* de fragmentos de DNA lineales con regiones cortas de homología de 16 a 32 pb mediadas por *Escherichia coli*. Los plásmidos obtenidos fueron introducidos en la cepa acristalífera 4Q7 de *B. thuringiensis* por medio de la técnica de electroporación.

Resultados: Se obtuvieron cepas recombinantes portadoras de las secuencias de interés, las cuales mostraron perfiles de crecimiento y esporulación similares entre sí. La presencia de las proteínas expresadas se detectó por SDS-PAGE y mediante microscopia electrónica de barrido.

Conclusiones: Los dos métodos fueron eficaces para clonar y expresar genes *cry* en sistemas heterólogos, estos podrán ser usados para estudiar la acción mosquitocida de cada toxina de manera individual y sinérgica, para ser empleadas en el control de poblaciones de mosquitos de importancia sanitaria.

MI 211

0546 - CONTROL BIOLÓGICO DE *FUSARIUM GRAMINEARUM SENSU STRICTO* EN TRIGO Y CEBADA EN ARGENTINA

CHIOTTA, Maria Laura [1] | YERKOVICH, Nadia[1] | CANTORO, Renata[1] | PALACIOS, Sofía[1] | ROSALES, Lorenzo[2] | CHULZE, Sofía[1] | PALAZZINI, Juan Manuel[1]

IMICO-CONICET [1]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES, UNRC [2]

Introducción y Objetivos: El control biológico es una estrategia amigable con el medio ambiente y se puede utilizar en el marco de un control integrado de patógenos. *Fusarium graminearum sensu stricto* afecta los principales cultivos invernales en Argentina, trigo y cebada, causando pérdidas en el rendimiento y calidad de los granos, con la posible contaminación subsecuente con micotoxinas. El efecto biocontrolador de *Bacillus velezensis* RC218 sobre *Fusarium graminearum ss* ha sido estudiado previamente en zonas trigueras óptimas, tanto para trigo pan como para trigo fideero, pero no en zonas sub-óptimas para el desarrollo del cultivo. En cebada, no se han descripto hasta el momento estudios relacionados a biocontrol sobre *Fusarium graminearum ss* en Argentina. Se propuso evaluar el efecto de *Bacillus velezensis* RC218 sobre trigo cultivado en una zona sub-óptima (Río Cuarto, Córdoba) y sobre el cultivo de cebada para evaluar su capacidad biocontroladora.

Materiales y Métodos: Se evaluó *in vitro* la producción de compuestos volátiles como un posible mecanismo de biocontrol. Los ensayos a campo se realizaron en bloques al azar donde se aplicaron por aspersión tanto el patógeno como la cepa biocontroladora durante el período de antesis. A los 21 días se determinó la incidencia y severidad de la enfermedad según una escala de 0-100 %. El ensayo de compuestos volátiles se llevó a cabo enfrentando placas cultivadas con las cepas patógenas de *F. graminearum ss* (Per56, MJ1 y MJ3) y placas cultivadas con *Bacillus velezensis* RC218. Las mismas fueron incubadas a 25°C en oscuridad y se midió el crecimiento radial fúngico a los 3 días de incubación.

Resultados: En el ensayo a campo de trigo, se logró una reducción de la incidencia del 44 % en el tratamiento con el biocontrolador. La severidad con *F. graminearum ss* fue del 16,7 % mientras que con el biocontrolador fue del 10,9 %, una reducción significativa del 37 %. En el cultivo de cebada la incidencia de la enfermedad se redujo en un 44 % al ser aplicado el agente de biocontrol. En el ensayo in *in vitro* de compuestos volátiles, el crecimiento radial de las cepas Per56, MJ1 y MJ3 se redujo en un 35, 81 y 85 %, respectivamente.

Conclusiones: Los resultados obtenidos nos permiten comprobar la versatilidad de *Bacillus velezensis* RC218 para adaptarse a diferentes cultivos y a ambientes bajo condiciones climáticas diferentes, además de que utiliza diferentes mecanismos para mantener su capacidad biocontroladora sobre *F. graminearum ss*.

MI 212

0968 - INHIBICIÓN DE *METARHIZIUM* SP. SOBRE HONGOS DEL COMPLEJO RESPONSABLE DEL DECAIMIENTO DE LA VID (CRD).

CABALLERO, Juan José [1] | DEYMIÉ TERZI, María Celina[2] | ROSA, Melisa[3] | OLIVIERI, Gabriela[4] | TORRENTE, Karina Andrea[5] | AGUILERA, Juan[2]

IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ [1]; IBT-FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ/CONICET [2]; INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS [3]; SENASA [4]; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ [5]

Introducción y Objetivos: Las enfermedades fúngicas de la madera de vid causan grandes pérdidas en la vitivinicultura. Estas micosis pueden afectar la productividad del cultivo, disminuir la calidad de los frutos e impactar negativamente sobre la economía de los productores. Bajo el término "decaimiento de la Vid" se agrupan varias enfermedades conocidas como eutypiosis, yesca, enfermedad de petri, brazo muerto y hoja de malvón. Tradicionalmente, el control de este tipo de enfermedades se ha abordado básicamente mediante prácticas culturales y tratamientos fungicidas. Sin embargo hasta el día de hoy ningún método de control ha sido totalmente efectivo para eliminar el problema por lo que se recurre frecuentemente a medidas preventivas. Una estrategia que se encuentra en auge y ha demostrado ser altamente eficaz en el control de poblaciones elevadas de insectos, corresponde al uso de hongos antagonistas biocontroladores (HAB). Además de estos efectos se ha comprobado que muchos HAB pueden desempeñar diversas funciones en la naturaleza entre las cuales cabe destacar su acción como antagonistas de fitopatógenos, biocontroladores de insectos plaga, y, promotores de crecimiento vegetal, entre otras. Es por esto que podrían constituir una herramienta importante para realizar un manejo integrado de organismos perjudiciales de un cultivo. El objetivo de este trabajo fue evaluar tres cepas de *Metarhizium* sp. como antagonistas de cuatro hongos integrantes del CRD.

Materiales y Métodos: Los ensayos de antagonismo se llevaron a cabo con tres cepas (CEP413, CEP589, y, CEP591) nativas de San Juan. La capacidad antagónica de las cepas de HAB se probó frente a 4 especies de hongos fitopatógenos empleados en los ensayos de antagonismo fueron *Arambarria destruens*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Lasiodiploidia crassispora* y *Eutypella microtheca* los cuales fueron obtenidos de muestras de troncos de vides con síntomas de estas enfermedades. Se trabajó en cajas de Petri con medio PDA (Papa, Dextrosa, Agar) sembrando uno de los fitopatógenos en el centro y cada cepa de ETP en la periferia. Esto se realizó con cada una de las especies fitopatógenas, y cada una de las cepas de HAB con tres repeticiones en cada caso. Además se realizaron tratamientos control sembrando los fitopatógenos y los HAB individualmente en cajas separadas. Todos los tratamientos fueron mantenidos en cámara de cultivo a 30 °C. A partir de las 48 horas se midió el crecimiento radial durante 10 días en cada uno de los tratamientos y controles. Con estos datos se calculó el porcentaje de inhibición.

Resultados: En función del ensayo de antagonismo, la inhibición del crecimiento de los 4 fitopatógenos fue dependiente de su combinación con la cepa biocontroladora. En este sentido, CEP413 presentó mayor capacidad inhibitoria respecto de los demás biocontroladores, especialmente frente a *E. microtheca*(65%) y *A. destruens* (62,5%).

Conclusiones: La cepa CEP413 presentó actividad inhibitoria contra dos de los integrantes del CDR *E. microtheca* y *A. destruens* por lo que podría ser propuesto como un potencial antagonista de los mismos en un manejo integrado.

MI 213

0144 - PRODUCCIÓN DE ENZIMA ß-GLUCOSIDASA POR LA LEVADURA ANTÁRTICA *MRAKIA* SP. 7.1.2016, INDUCIDA POR PECTINA

BEZUS, Brenda [1] | RUSCASSO, Maria Florencia[1] | GARMENDIA, Gabriela[2] | VERO, Silvana[2] | CAVELLO, Ivana[1] | CAVALITTO, Sebastián[1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CONICET-UNLP) [1]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, DPTO. DE BIOCIENCIAS, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR [2]

Introducción y Objetivos: Durante los últimos años se ha reconocido el potencial biotecnológico que poseen las levaduras adaptadas al frío, ya que sus enzimas son activas a temperaturas medias y bajas. En consecuencia, muchas reacciones industriales (especialmente en la industria alimenticia) pueden darse a temperaturas menores, disminuyendo costos energéticos y contribuyendo además a la preservación de las propiedades organolépticas de los alimentos. Las enzimas ß-glucosidasas poseen la capacidad de liberar precursores aromáticos modificando, de esa forma, las propiedades sensoriales de los alimentos, y son especialmente utilizadas en el área de bebidas fermentadas. En este trabajo se planteó como objetivo el estudio de la producción de ß-glucosidasas por la levadura antártica psicrófila *Mrakia* sp. 7.1.2016, a escala de fermentador tipo tanque agitado.

Materiales y Métodos: Se realizaron cinéticas en Erlenmeyers a 14°C utilizando un medio complejo con 10 g/l de glucosa o pectina como fuente de carbono y energía (FCE), 150 rpm. El medio que obtuvo mayor actividad fue escalado a un fermentador de tipo tanque agitado de 3,5 l (Inceltech LH210), a 14°C, 350 rpm, en un cultivo en sistema *Batch*. Se monitoreó la producción de biomasa, el consumo de O_2, la producción de CO_2 y la actividad enzimática durante el cultivo.

Resultados: Para determinar que FCE resulta más eficiente para la producción enzimática, se realizaron cultivos con glucosa o pectina. Los máximos de actividad obtenidos fueron 13,0 ± 1,0 mU/ml a las 87 h y 26,2 ± 0,1 mU/ml a las 95 h de cultivo con glucosa y pectina, respectivamente. En base a estos resultados se decidió realizar el escalado utilizando el medio con pectina. Durante el cultivo se observó una fase lag de aproximadamente 24 h, y el crecimiento presento dos etapas bien definidas, produciéndose la actividad β-glucosídica en la segunda etapa. El cultivo duró 89 h, luego de las cuales se pudo obtener un extracto con 24,2 ± 0,2 mU/ml de enzima. El consumo total de oxígeno y la producción total de CO_2 durante la primera etapa (0-50 h) fueron de 76,36 mmoles y 67,22 mmoles, mientras que en la segunda etapa (50-89 h) fueron de 102,21 mmoles de O_2 y 133,10 de CO_2. La biomasa final obtenida durante la primera etapa fue de 3,13 g/l de biomasa, mientras que luego de la segunda etapa se obtuvieron 4,13 g/l de biomasa, con una producción enzimática de 5,9 mU/ g de biomasa. La velocidad específica de crecimiento durante la primera etapa del cultivo fue 0,06 h^{-1}.

Conclusiones: Este es el primer reporte del estudio de la producción de enzima ß-glucosidasa por parte de una levadura antártica perteneciente al género *Mrakia*, y su posterior escalado a fermentador del tipo tanque agitado. Se observó un crecimiento en dos etapas, lo cual podría deberse al consumo de los diferentes sustratos presentes en el medio (extracto de levadura, peptona, pectina). La enzima sería inducible por el sustrato consumido durante la segunda etapa de crecimiento. Se planea estudiar su potencial aplicación industrial en liberación de aromas en vinos.

MI 214

0152 - ESTRATEGIAS DE CULTIVO PARA EL ESTUDIO DEL CRECIMIENTO Y LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS PECTINOLÍTICAS POR PARTE DE LA LEVADURA ANTÁRTICA *CRYPTOCOCCUS GILVESCENS* 32

CAVELLO, Ivana | BEZUS, Brenda | SOSA, Pilar | RUSCASSO, Maria Florencia | CAVALITTO, Sebastián

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CONICET-UNLP)

Introducción y Objetivos: Las enzimas pectinolíticas son una parte integral del procesamiento comercial de los alimentos. Se utilizan principalmente en las etapas de licuefacción, clarificación y extracción de jugos. La industria alimentaria actualmente utiliza pectinasas de microorganismos mesófilos o termófilos, sin embargo, en los últimos tiempos, ha habido una nueva tendencia a adoptar procesos a baja temperatura trayendo aparejado la búsqueda de nuevas pectinasas activas en estas condiciones. El objetivo del presente trabajo fue plantear diferentes estrategias de cultivo para el estudio del crecimiento y la producción de estas enzimas por parte de la levadura antártica *Cryptococcus gilvescens* 32. Se realizaron cultivos en sistemas *batch*, *fedbatch* y cultivos continuos en un fermentador tipo tanque agitado New Bruswick Bioflo 310 con un volumen útil de 1.5 lts con control automático de pH y oxígeno disuelto.

Resultados: Se estudió el efecto de la fuente carbono y de la fuente de nitrógeno sobre el crecimiento y la expresión enzimática en sistemas de cultivos batch. Se observó que, en presencia de pectina o glucosa, se

obtiene igual título de actividad pectinolítica por unidad de biomasa (10.5 ± 0.75 U/g_x), indicando que esta enzima es no inducible. En términos de biomasa final se obtuvo mayor valor en presencia de glucosa (5.75 ± 0.75 g/l) que en presencia de pectina (3.79 ± 0.59 g/l) y por ende mayor actividad total. Para el estudio del efecto de la fuente de nitrógeno se utilizó urea o sulfato de amonio. En presencia de Urea se obtuvo una mayor biomasa final (X_f 7.52 ± 0.60 g/l) y una mayor actividad volumétrica 0.20 ± 0.01 U/ml que en presencia de Sulfato de Amonio (X_f: 5.75 ± 0.75 g/l y 0.13 ± 0.02 U/ml). La velocidad máxima de crecimiento (μmáx) resultó ser igual a 0.105 ± 0.011 h^{-1}. En vista de los resultados obtenidos como estrategia para obtener mayor biomasa y por ende mayores títulos de actividad pectinolítica se diseñó un cultivo batch alimentado, utilizándose como parámetros de diseño un flujo constante e igual a 36 ml/h y una concentración del reservorio (Sr) igual a 95 g/l. Con estos parámetros y luego de alimentar durante 21.75 h se obtuvo una biomasa final de 23.8 g/l y un máximo de actividad enzimática de 0.24 U/ml con una relación igual a 10.97 U/g_x. Finalmente se procedió al estudio del efecto de la velocidad de dilución (D) sobre la expresión enzimática utilizando el sistema de cultivo continuo. Se observó que la velocidad de síntesis de la enzima q_E (U/g_x*h) se incrementa al aumentar D, incrementándose de 0.041 a 0.35 U/g_x*h.

Conclusiones: El presente trabajo nos permitió determinar que *C. gilvescens* 32 expresa pectinasas no inducibles y que a mayor biomasa final mayor actividad total. De este modo se pudieron obtener mayores títulos de actividad utilizando sistemas batch alimentado y gracias al uso de sistemas de cultivo continuo se logró determinar que la síntesis y expresión enzimática se encuentra estrechamente relacionada con la velocidad de crecimiento.

MI 215

0204 - CULTIVOS LÁCTICOS COMO POTENCIADORES DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE AVENA

LLEBEILI, Yamila | CARABAJAL TORREZ, José Agustín | RODRÍGUEZ DE OLMOS, Antonieta | **GEREZ, Carla**

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Cosméticos (cremas, jabones, emulsiones, etc.) a base de avena están actualmente disponibles en el mercado, puesto que se han realizado estudios in vitro e in vivo que demuestran la eficacia para el tratamiento de afecciones inflamatorias de la piel.La actividad anti-inflamatoria de la avena ha sido relacionada principalmente por su contenido en compuestos fenólicos (CF) con actividad antioxidante. Sin embargo, solo el 1,5 % del contenido de CF de avena se encuentran libres y activos. Las bacterias lácticas (BL) forman parte de un grupo heterogéneo de microorganismos que presentan un inmenso potencial biotecnológico. Estos microorganismos poseen un amplio espectro de enzimas (decarboxilasas, reductasas, esterasas y/o glicosidasas) que podrían producir modificaciones químicas en los CF de la avena y potenciar sus propiedades antioxidantes. En base a lo expuesto, el objetivo del trabajo fue estudiar la fermentación láctica como bioestrategia para potenciar la acción antioxidante de la avena *Avena sativa*.

Materiales y Métodos: Para alcanzar este objetivo las condiciones de producción de un sistema avena/agua estéril (SAA) fue estandarizado (avena/agua 1/25 p/v, 0,5 % de glucosa, 121 °C durante 20 min), se inocularon individualmente 31 cepas de BL y se evaluó crecimiento (recuento en placa), acidificación (pH) y actividad fermentativa por métodos conductimétricos [Parámetros evaluados: tiempo de detección (DT), velocidad máxima de cambio de conductancia (VMCC) y porcentaje de cambio de conductancia (PCC)]. Luego de 24 hs. de fermentación, se determinó CF (método de Folin-Ciocalteu) y actividad antioxidante (métodos DPPH• y ABTS•+) de extractos metanólicos obtenidos a partir de los sistemas SAA fermentados (SAAf). Como control se empleó un SAA no fermentado acidificado químicamente (SAAa) para evaluar el efecto del pH.

Resultados: Los géneros *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* mostraron mejor adaptabilidad al medio observándose altos valores de VMCC (0,34-0,47 μS/min) y PCC (53,6-66,6 %), con bajos valores de DT (inferior a 3 hs). Considerando estos parámetros, se seleccionaron 4 cepas de *L. plantarum* (CRL 685, CRL 769, CRL 778 y CRL 795) y 2 cepas de *P. pentosaceus* (CRL 768 y CRL 773). El contenido de CF de los extractos metanólicos de los SAAf de las 6 cepas seleccionadas (29,1-36,9 μg de ácido gálico /ml) fue mayor al contenido en SAAa (17,1±1,9 μg de ácido gálico /ml). Asimismo, se detectó un incremento (9-25,5 %) en la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de SAAf por ambos métodos evaluados, DPPH• y ABTS•+.

Conclusiones: Nuestros resultados muestran el gran potencial que puede tener la fermentación láctica para incrementar el contenido de compuestos antioxidantes en la avena.

MI 216

0213 - CRECIMIENTO DE *LACTOBACILLUS SAKEI* ACU-2 BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE PH Y TEMPERATURA

GALANTE, Nadia Soledad [1] | PALAVECINO PRPICH, Noelia[1] | CAYRÉ, María Elisa[2] | CAMPOS, Carmen[3] | CASTRO, Marcela[1]

CONICET/ LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL [1]; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL [2]; CONICET/ DEP. DE INDUSTRIAS - FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES - UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [3]

Introducción y Objetivos: En la provincia de Chaco, los productos cárnicos fermentados se elaboran de forma artesanal. Estos productos, de amplia aceptación entre los consumidores, se obtienen por fermentación espontánea. Como consecuencia, no es posible garantizar la seguridad y la homogeneidad en la calidad de los mismos a lo largo del tiempo. Con el objeto de subsanar estos inconvenientes sin afectar las características sensoriales típicas, se diseñó un cultivo starter a partir de cepas autóctonas (*Lactobacillus sakei* ACU-2 y *Staphylococcus vitulinus* ACU-10). El desempeño del starter, fue evaluado *in situ*en la línea de producción de salamines de una pequeña industria local, evidenciándose resultados favorables en su utilización. La aplicación industrial de este cultivo requiere de cantidades significativas de biomasa, por lo cual resulta necesario optimizar las condiciones de crecimiento a fin de obtener el mayor rendimiento posible. El pH del medio de cultivo y la temperatura de incubación son factores determinantes en el crecimiento de los microorganismos. El presente trabajo evalúa el efecto de estos dos factores sobre el crecimiento de *L. sakei* ACU-2, a fin de seleccionar los valores que permitan obtener mayor biomasa en el menor tiempo.

Materiales y Métodos: Se utilizó caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe), el cual se inoculó al 1% con un cultivo activo de la cepa. Para evaluar la influencia de la temperatura, se incubó a 25, 30, 37 y 42°C durante 12 horas. Por otra parte, se ajustó el pH del medio a 4,5, 5,5, 6,5 y 7,5 con solución de HCl 1N o NaOH 1N, y se incubó durante 12 horas a 30°C. El crecimiento del microorganismo se monitoreó mediante los cambios de densidad óptica (DO) a 600 nm. Los datos obtenidos, expresados como $LogDO_{600}$, se usaron para ajustar la ecuación modificada de Gompertz y estimar los parámetros cinéticos de crecimiento: tiempo de latencia (L) expresado en h, velocidad específica de crecimiento (μ) en hˆ-1 y máxima densidad ($LogDO_{max}$). El efecto de la temperatura y el pH sobre los parámetros de crecimiento se evaluó por análisis de varianza (ANOVA) de una vía.

Resultados: En todo el rango de temperaturas y pH ensayados no se detectó influencia significativa sobre el tiempo de latencia, resultando sus valores medios en 0,90±0,02 h y 1,22±0,00 h, respectivamente. En cambio, la velocidad de crecimiento resultó superior para el rango de temperaturas de 30-37°C (μ=0,36±0,01hˆ-1) y para pH 7,5 (μ=0,43 ± 0,00hˆ-1), en tanto que los valores más bajos se hallaron a 42°C (μ=0,23±0,00hˆ-1) y pH 4,5 (μ=0,11±0,00hˆ-1). Por otra parte, la máxima densidad presentó valores mayores a 25°C y 30°C ($C=0,64\pm0,01LogDO_{max}$) y a los pH 6,5 y 7,5 ($C=0,76\pm0,02LogDO_{max}$), mientras que resultaron significativamente inferiores a 42°C y pH 4,5.

Conclusiones: Los resultados obtenidos permiten concluir que, dentro de los valores de temperatura y pH evaluados, los correspondientes a 30°C y pH 7,5 resultan más adecuados para el crecimiento de *L. sakei* ACU-2.

MI 217

0225 - ACTIVIDAD FITASA DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* CRL 1964

SANDEZ PENIDEZ, Sergio Hernán | **VELASCO MANINI, Marina Andrea** | GEREZ, Carla | ROLLAN, Graciela Celestina

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: El ácido fítico (AF) es una molécula cargada con 6 grupos fosfatos ligados a un anillo central mio-inositol que constituye 1-4 % del peso de granos de cereales y seudocereales, representando la mayor forma de almacenamiento de fósforo. Por su estructura, el AF es un factor antinutricional al quelar cationes, minerales y proteínas, formando complejos insolubles y disminuyendo su biodisponibilidad. El AF puede ser hidrolizado por fosfatasas o fitasas, produciendo mio-inositol (penta- a mono-fosfatos) y fosfato libre. La fermentación por bacterias lácticas (BL) seleccionadas puede modificar la composición fisicoquímica y funcional de sustratos vegetales alterando la relación de componentes anti-nutritivos/nutritivos. En estudios previos, *Lactobacillus (L.) plantarum* CRL 1964, fue seleccionada entre 73 cepas de BL aisladas de quinoa y amaranto, por presentar la mayor actividad fitasa asociada al crecimiento óptimo en medio de cultivo en presencia de fitato (MRSm). En base a lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar la producción y actividad fitasa de *L. plantarum* CRL 1964.

Materiales y Métodos: La producción de la enzima por la cepa CRL 1964 fue evaluada en medio de cultivo MRSm en presencia de diferentes fuentes de carbono y fósforo, así como a pH libre y controlado (pH 5.5). Los valores de pH y temperatura óptimos de la actividad fitasa asi como la estabilidad térmica y a diferentes valores de pH también fueron evaluados. Asimismo, se determinó el efecto de diferentes moduladores (Zn^2+,

Ca^2+, Ni^2+, Cd^2+, Co^2+, Cu^2+, Fe^2+, Mg^2+, Mn^2+, NaF, o-fenantrolina, EDTA, H_2O_2, SDS, DTT, PMSF, urea y ácido ascórbico) sobre la actividad enzimática.

Resultados: La presencia de fitato en el medio de cultivo indujo (45%) la producción de la enzima, la cual no fue reprimida por el contenido de fósforo del medio. Respecto a la fuente de carbono, la presencia de maltosa ó rafinosa en el medio de cultivo incrementó (20-23%) la producción de la enzima. El valor de pH del medio tuvo influencia en la producción de la enzima, la cual fue máxima al comienzo de la fase estacionaria de crecimiento (8h) en condiciones de pH libre, mientras que a pH controlado (pH 5.5) la máxima producción fue a las 6h y 26% mayor respecto al valor a pH libre. La actividad fitasa de CRL 1964 presenta valores óptimos de pH y temperatura de 4.5 y y 55 °C, respectivamente. Respecto a la estabilidad térmica de la enzima, mantiene 100% su actividad hasta los 60 ºC, a mayores temperaturas (80 ºC) la actividad disminuye (75%) . Entre los efectores evaluados, los agentes desnaturalizantes de enlaces disulfuro, agentes oxidantes y metales pesados inhibieron entre 4 % y 78-%, mientras que EDTA, Co^2+ y ácido ascórbico estimularon la actividad enzimática (7% a 65%).

Conclusiones: Los resultados obtenidos indican el potencial de la fitasa de *L. plantarum* CRL 1964 para ser incluida en el procesamiento de productos a base de cereales o seudocereales a fin de incrementar la biodisponibilidad de minerales y su valor nutricional.

MI 218

0251 - PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE DOS CEPAS DE DIATOMEAS: *DIADESMIS* SP. Y *NITZSCHIA* SP.

ISHIGURO, Cristian | VELA, Valentina Sol | GONZÁLEZ, María José | **OLIVELLI, Melisa**

UNIVERSIDAD ARGENTINA DE LA EMPRESA (UADE), INSTITUTO DE TECNOLOGÍA.

Introducción y Objetivos: Las diatomeas son un grupo de microalgas que ha adquirido gran importancia biotecnológica debido a su capacidad para producir lípidos que se pueden usar como complementos alimenticios, para la producción de biodiesel o en productos farmacéuticos. Por otro lado, varios estudios han postulado que la producción de lípidos aumenta cuando los microorganismos están sometidos a condiciones de estrés. El objetivo de este trabajo es comparar la eficiencia de producción de lípidos de interés de dos cepas de diatomeas aisladas de diferentes ambientes (prístino y contaminado); a modo de evaluar su potencial biotecnológico.

Materiales y Métodos: Se utilizaron dos cepas: *Diadesmis* sp. Y *Nitzschia* sp; aisladas de un sitio altamente contaminado (Río Luján) y uno prístino (Reserva Municipal de Rivera Norte), respectivamente. El crecimiento de los cultivos se realizó en medio DM modificado, a 24°C con fotoperíodos de 16: 8 horas (luz: oscuridad). Se determinaron las cinéticas de crecimiento de ambas en función del número de células. Se comparó la acumulación de lípidos totales en función del tiempo para cada una de las cepas empleadas. Para la determinación cualitativa de lípidos neutros acumulados en las células se utilizó la técnica de espectrofluorometría con Rojo de Nilo. La extracción y cuantificación de la fracción de lípidos totales se realizó mediante la técnica modificada de Folch. Luego, se realizó el fraccionamiento del extracto en: lípidos neutros, glicolípidos y fosfolípidos. Se realizó, además, la transesterificación de todas las fracciones y se analizó el perfil de ácidos grasos obtenidos mediante CG-FID.

Resultados: El estudio de la cinética de crecimiento indicó que *Nitzschia* sp. presentó un mayor número de células totales, sin embargo el porcentaje de acumulación de lípidos de *Diadesmis* sp. fue mayor a lo largo de toda la curva de crecimiento. Al comienzo de la fase exponencial, la acumulación de lípidos fue de 44% y de 34% para *Diadesmis* sp. y *Nitzschia* sp., respectivamente. En la fase exponencial tardía de crecimiento, la acumulación de lípidos fue de 82% y de 66% para *Diadesmis* sp. y *Nitzschia* sp., respectivamente. Mientras que, en la fase estacionaria de crecimiento *Nitzschia* sp. presentó una acumulación de lípidos del 53% y *Diadesmis* sp. acumuló un 79% de lípidos totales. El análisis del perfil de ácidos grasos de cada fracción no indicó diferencias entre las cepas estudiadas. Los resultados mostraron en todas las fases de crecimiento la fracción de lípidos neutros es mayoritaria, siendo los ácidos caprílico, margárico y palmítico, los más predominantes por sobre los ácidos grasos de cadenas más largas. Asimismo, también se detectó acido esteárico.

Conclusiones: Estos resultados indicaron que la cepa *Diadesmis* sp. presentó la mayor acumulación de lípidos y que el perfil de ácidos grasos es abundante en ácidos grasos de cadena mediana, haciendo a las diatomeas un buen productor de sustrato para la producción de biodiesel a diferencia de otras algas.

MI 219

0297 - BIOSÍNTESIS DE BUTIRATO EN CEPAS DE *THERMOANAEROBACTERIUM*

DÍAZ PEÑA, Rocio [1] | EGOBURO, Diego[1] | MÉNDEZ, Beatriz[2] | PETTINARI, María Julia[3]

IQUIBICEN [1]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UBA [2]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET [3]

Introducción y Objetivos: En las últimas décadas, el desarrollo de biocombustibles como el butanol y el etanol, ha ganado un gran interés como alternativa a los combustibles fósiles que generan grandes emisiones de CO_2 y utilizan un recurso no renovable. Estos compuestos son sintetizados por algunas bacterias anaerobias como *Clostridium acetobutylicum* como producto de fermentación. Desde un punto de vista biotecnológico la utilización de organismos termófilos presenta ventajas por sobre los mesófilos, dado que su uso reduce los costos en la fermentación ya que no requieren refrigeración. Las bacterias del género *Thermoanaerobacterium* son anaerobias y termófilas, y algunas especies son capaces de producir etanol y butanol. Sin embargo, sus vías metabólicas no se conocen en profundidad. Por esa razón, en este trabajo se realizó un análisis comparativo de las vías de producción de ácidos y alcoholes en las cepas secuenciadas del género *Thermoanaerobacterium*, y se caracterizó experimentalmente el perfil metabólico de dos cepas de *T. thermosaccharolyticum*.

Materiales y Métodos: Se realizó un análisis genómico comparativo utilizando las plataformas *RAST annotation Server, y BLAST*. Las cepas *T. thermosaccharolyticum* GSU 5 y *T. thermosaccharolyticum* DSM 571 se cultivaron durante 48 h en condiciones anaeróbicas y los metabolitos generados se midieron mediante HPLC y GC.

Resultados: En todas la cepas analizadas: *T. thermosaccharolyticum* (GSU5, DSM 571, M5, M0975, TG57) y en *T. sp. RBIITD* se encontraron los genes involucrados en la síntesis de butiril-coA organizados en el operón *bcs*. Con respecto a la síntesis de butirato en estas cepas el butirato se sintetiza mediante la conversión de butiril-CoA catalizada por BUT (Butyryl-CoA:acetate CoA transferase) utilizando acetato. En contraste, *T. xylanolyticum* LX-11, *T. saccharolyticum* JW/SL-YS485, *T. saccharolyticum* NTOU1, *T. aotearoense* SCUT27 y *T. sp.* PSU-2 no poseen los genes del operón *bcs*. Si bien presentan los genes que codifican para las enzimas PTB1 (Phosphate butyryltransferase) y BUK (Butyrate kinase), las cuales están involucradas en la vía de síntesis de butirato más conocida, estas cepas no son capaces de sintetizar butirato debido a la ausencia de algunos genes clave, por lo cual se postula que PTB1 y BUK estarían involucradas en la degradación de aminoácidos de cadena ramificada. Por otro lado, ninguna de las cepas analizadas presenta los genes que codifican las enzimas involucradas en la síntesis de acetona. Consistentemente, no se observó producción de acetona en las cepas GSU5 y DSMZ 571.

Conclusiones: En este trabajo se logró evaluar las vías de producción de butanol, butirato y acetona en distintas cepas de *Thermoanaerobacterium*. Se encontró que las cepas capaces de producir butirato poseen la vía de BUT. Además se observó que las cepas del género *Thermoanaerobacterium* no producen acetona como producto de fermentación, a diferencia de *C. acetobutylicum*, que produce acetona, butanol y butirato por la vía ABE.

MI 220

0301 - DISEÑO DE UN MEDIO MINIMIZADO PARA LA PRODUCCIÓN DE MANITOL POR *FRUCTOBACILLUS*

MOHAMED, María Florencia | RAYA, Raúl Ricardo | MOZZI, Fernanda

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: El manitol es un edulcorante de bajas calorías ampliamente usado en la industria alimenticia. La producción microbiana de manitol por *Fructobacillus* es de gran interés ya que este microorganismo utiliza la fructosa como aceptor de electrones para su crecimiento con la concomitante formación de manitol. En estudios previos se observó que dos cepas de *Fructobacillus* eran muy buenas productoras de manitol cuando crecían en medio FYP con jarabe de fructosa (JMAF) al 9% de azúcares final (FYPj). El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de los componentes de FYPj en el crecimiento y la producción de manitol por *F. durionis* CRL 2054 y *F. tropaeoli* CRL 2034 y formular un medio de cultivo minimizado apto para la producción de este poliol.

Materiales y Métodos: Se utilizó el diseño estadístico Plackett-Burmann para la evaluación de 2 niveles de los 8 componentes del medio FYP [presencia o ausencia en la mayoría de las variables, a excepción de peptona vegetal (0,25 y 0,5%) y extracto de levadura (0,5 y 1%)]. Se ejecutaron 12 ensayos independientes para cada cepa que se inocularon a DOi= 0,05 e incubaron a 30 °C 24 h. Como respuestas para el modelo se usaron: i) logUFC 0-24 h, asociada al crecimiento microbiano y ii) la relación manitol/fructosa residual, asociada a la producción de manitol (HPLC). Se visualizaron las variables significativas sobre las respuestas estudiadas (por separado), mediante diagramas de Pareto. Para la optimización de las respuestas se usó la función D (*desirability*). En base a los resultados obtenidos, se diseñó un medio minimizado (FYPjmin) para ambas cepas que fue luego validado mediante la evaluación del crecimiento y la producción de manitol respecto al medio control.

Resultados: Solo el MnSO4 y el acetato de sodio (NaAc) presentaron efectos significativos en la relación man/fru para ambas cepas. El NaAc también tuvo efectos significativos en el crecimiento en *F. tropaeoli*. Por otro lado, el extracto de levadura mostró un efecto significativo sobre el logUFC 0-24 h para ambas cepas mientras fue positivo en la relación man/fru solo para *F. durionis*. Se diseñó el medio minimizado con las siguientes variables y niveles: extracto de levadura 1%, peptona 0,25%, NaAc 0,2%, MnSO4 0,001% y JMAF al 9% como fuente de carbono. Finalmente, se determinó el crecimiento, producción de manitol y actividad manitol 2-deshidrogenasa (MDH) de los cultivos crecidos en FYPjmin y FYPj (control). Ambos fructobacilos crecieron de manera similar en ambos medios excepto por una mayor fase de latencia para *F. durionis* en FYPjmin. Respecto a la actividad MDH, no se observaron diferencias significativas (p>0,05) en los cultivos crecidos en ambos medios para *F. durionis* (3,04±0,25 -3,71±0,18 U/mg) y *F. tropaeoli* (3,86±0,70 – 4,51±0,13 U/mg).

Conclusiones: Se diseñó un medio minimizado adecuado para el crecimiento y producción de manitol por *F. durionis* CRL 2054 y *F. tropaeoli* CRL 2034.

MI 221

0332 - PRODUCCIÓN DE ACTIVIDADES LIGNINOLITICAS POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE ORUJOS DE ACEITUNA. EFECTO DE DISTINTAS VARIABLES PARA SU OPTIMIZACIÓN

DURÁN, Ludmila B | JIMENEZ PRIOR, Fátima A | MARTÍN, María Lucía | VALLEJO, Martha D | **RODRIGUEZ, Laura** | BUSTOS, Luciana

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNSJ

Introducción y Objetivos: El alperujo (AL) es un subproducto que se obtiene del proceso de extracción de aceite de oliva en sistemas de extracción de dos fases. El AL, es semisólido, y su composición en peso es: agua 83-96%, materia orgánica 3.5-15% y sustancias minerales 0.5-2%. La fracción orgánica incluye azúcares, proteínas, ácidos orgánicos, lípidos, pectinas y compuestos fenólicos (CF). Debido al contenido de CF, frecuentemente, el AL es considerado como tóxico. Además, por requerimiento legales, es necesario realizar un tratamiento previo a su disposición final. La Fermentación en Estado Sólido (FES) es un tratamiento que posibilita la detoxificación y valorización del AL. En ensayos FES preliminares, con medios de cultivo preparados con orujo de aceituna (extraído de AL) y hongos filamentosos aislados de AL, se determinó crecimiento de microorganismos, consumo de CF y producción de enzimas ligninolíticas. En el presente trabajo, el objetivo fue determinar el efecto de distintas variables en la producción de Lignin-Peroxidasa (LiP) y Lacasa (Lac).

Materiales y Métodos: Para ello se realizó un diseño estadístico de Plackett-Burman (DPB) con 10 variables, en 2 niveles (bajo (-) y alto (+)). Las variables ensayadas fueron X1: tiempo de cultivo (3 y 8 días); X2: extracto acuoso de AL (0 y 7 %p/p); X3: extracto acuoso de orujo de uva tinta (0 y 7 %p/p); X4: alcohol veratrílico (0 y 0.025 %p/p); X5: Tween 0.01% (0 y 0.02 %p/p); X6: SO4Cu (0 y 0.1 %p/p); X7: Glucosa (0 y 2 %p/p); X8: SO4NH4 (0 y 3.7 %p/p); X9: nutrientes Na, P, Cl, K, Mg, Fe (0 y 10 ml/100 g); X10: contenido inicial de agua (55 y 70%). Las respuestas estudiadas fueron LiP y Lac. Los 12 ensayos FES indicados por el DPB, se realizaron en cajas de Petri, por triplicado, cultivados a 27°C. El medio de cultivo sólido se preparó con orujo de aceituna (70 % p/p) y escobajo de uva (30% p/p), más el agregado de las sustancias previstas en el DPB. Las enzimas se cuantificaron por espectrofotometría, utilizando alcohol veratrílico y ABTS, como sustratos para LiP y Lac, respectivamente.

Resultados: De las respuestas estudiadas para la producción de Lac, el ensayo mostró que el incremento en las variables X1, X2, X6 y X9, tuvo efecto positivo, mientras que el resto de las variables, mostraron un efecto negativo cuando pasaron del nivel bajo al nivel alto. Para el caso de la LiP, las un incremento en las variables X3, X4, X7 y X8, tuvo efecto positivo; el resto de las variables, efecto negativo. Para la producción de ambas actividades enzimáticas, el incremento en la variable X10 (contenido de agua) tuvo efecto negativo; mientras que un incremento en X1, tuvo efecto positivo.

Conclusiones: La principal conclusión fue que las variables que afectaron positivamente la producción de una actividad enzimática, no tuvieron el mismo efecto en la producción de la otra actividad enzimática. Los próximos ensayos, estarán orientados a optimizar las variables cuyos efectos fueron coincidentes para ambas actividades enzimáticas.

MI 222

0341 - IMPACTO EN EL PERFIL AROMÁTICO Y SENSORIAL DE VINOS REDUCIDOS EN ETANOL OBTENIDOS MEDIANTE CULTIVOS SECUENCIALES DE *HANSENIASPORA UVARUM* Y *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

MESTRE, Maria Victoria[1] | GALLARDO, Maria Candelaria[2] | **VERGARA ALVAREZ, Silvia Cristina** [2] | KUCHEN, Benjamin[2] | TORO, Maria Eugenia[3] | VAZQUEZ, Fabio[4] | CARRAU, Francisco[5] | DELLACASSA, Eduardo[5]

IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUIMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET [1]; IBT, FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET [2]; IBT FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ [3]; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ [4]; Facultad de Química - UDeLaR / Lab. de Biotecnología de Aromas [5]

Introducción y Objetivos: Vinos bien estructurados y con adecuada complejidad aromática son algunas de las preferencias de los nuevos consumidores. Con el fin de obtener dichas características es necesario asegurar una adecuada madurez fenólica en el viñedo, lo cual requiere cosechas prolongadas en el tiempo. Sin embargo, en un contexto actual de cambio climático, retrasar el tiempo de cosecha, trae aparejado ciertos problemas como ser el aumento de la concentración de azúcar y consecuentemente incremento del grado alcohólico en el producto final. El aumento de etanol en vinos causa ciertos problemas asociados a la salud, tasas impositivas y deterioro de la calidad organoléptica. Diferentes estrategias pre-fermentativas, fermentativas y post-fermentativas son propuestas para mitigar dicho problema. El uso de levaduras no-*Saccharomyces* y *Saccharomyces* con metabolismos ineficientes respecto a la producción de etanol es una alternativa atractiva para ser empleada. Sin embargo, mas allá de presentar ineficiencia en la transformación de azúcares en etanol es necesario que aporten un perfil organoléptico deseado en la matriz del vino. En el presente estudio se evaluó el impacto sensorial y aromático de un cultivo secuencial optimizado entre la levadura *H. uvarum* (BHu9) y *S. cerevisiae* (BSc114) (T1) en mosto Cv. Malbec (Cañada Honda – San Juan) comparado con fermentaciones en monocultivo de S. cerevisiae (BSc114) (TC).

Materiales y Métodos: Se determinó la composición aromática mediante SPE- GC- MS y se evaluaron los vinos con un panel sensorial entrenado. Los ensayos se realizaron por triplicado y se trabajó con un nivel de confianza de 95 %.

Resultados: Lo vinos obtenidos a partir de la co-inoculación presentaron 0.52 % v/v menos de etanol respecto al monocultivo ($p < 0.05$). El tratamiento TC presentó mayor concentración total de alcoholes superiores esteres y ácidos grasos. Los compuestos etil decanoato y hexanoato, 3-etoxy-1-propanol, isoamil acetato y "gamma"-butirolactona fueron detectados con mayor concentración en el tratamiento T1 ($p<0.05$). Mientras que los vinos obtenidos con BSc114 (TC) los compuestos con mayor aporte fueron el etil octanoato, 3 metil 1 butanol, 3 metiltio 1 propanol, 2 fenilalcohol y "gamma"-valerolactona ($p<0.05$). mediante el análisis sensorial se determinó que los vinos fermentados con co-inoculación estuvieron asociados a caracteres frutales y a la intensidad de color. Los vinos producidos con *S. cerevisiae* se asociaron a características aromáticas florales, amargo, calor y astringencia, siendo estas últimas características asociadas a vinos con más alta graduación alcohólica.

Conclusiones: A partir de los resultados obtenidos, se determina que la estrategia de co-inoculación además de producir una reducción significativa en el grado alcohólico, proporciona características visuales y organolépticas deseadas en la matriz del vino. De esta manera se propone una técnica adecuada de mitigación a la problemática actual que debe enfrentar la viticultura y enología.

MI 223

0635 - CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS Y PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES POR *LACTOBACILLUS PARACASEI* 90

RETAMAR, Celeste | WOLF, Irma Verónica | CAPRA, María Luján | HYNES, Erica | **PERALTA, Guillermo** | BERGAMINI, Carina

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL/ INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL

Introducción y Objetivos: El metabolismo de aminoácidos (AA) es uno de los principales caminos metabólicos implicados en el desarrollo de compuestos de sabor y aroma en quesos, siendo las bacterias lácticas las principales responsables de esta transformación. Este catabolismo comienza con una reacción de transaminación, catalizada por aminotransferasas (AT), en la cual es necesaria la presencia de un compuesto aceptor del grupo amino, que generalmente es el alfa-cetoglutarato (AKG), el cual se produce a partir de ácido glutámico por actividad glutamato dehidrogenasa (GDH). En el presente trabajo se evaluó el catabolismo de AA de la cepa autóctona *Lactobacillus paracasei* 90 (L90) en condiciones de deprivación de azúcares simulando lo que ocurre durante la maduración de un queso. En estudios previos se determinó que L90 tiene actividad AT hacia distintos AA con preferencia hacia el Asp; además demostró baja actividad GDH.

Materiales y Métodos: Resting cells de la cepa L90, desarrolladas en MRS hasta fase de crecimiento estacionaria, se inocularon (en niveles de 9 log UFC/mL) e incubaron (37ºC-48h) en mezclas simples de reacción, que consistieron de buffer fosfato adicionado de un pool de 9 aminoácidos (2mM de cada uno) y piridoxal fosfato 0,05mM (cofactor de las AT). La actividad metabólica de L90 se evaluó en estas mezclas a dos valores de pH: 5,5 y 7,0, y en tres condiciones: sin ningún otro compuesto agregado (a) o adicionadas de piruvato de sodio 10mM (b) o de AKG 10 mM (c). Luego de la incubación se evaluó la viabilidad (recuentos en placa) y la actividad metabólica de L90 (pH y perfil de ácidos orgánicos, aminoácidos y compuestos volátiles).

Resultados: Durante la incubación se observó una disminución de los recuentos de la cepa L90. Sin embargo, se mantuvo viable en niveles entre 4 y 7 log UFC/mL, y metabólicamente activa en las condiciones ensayadas. A ambos valores de pH evaluados, la disponibilidad de AKG y piruvato incrementó la sobrevida de L90 y su capacidad de metabolizar AA y producir compuestos derivados. El AKG disminuyó aprox. un 10%, indicando probablemente su participación como cosustrato en las reacciones de transaminación; consecuentemente en estas mezclas se incrementó el nivel de Glu derivado del metabolismo del AKG. El piruvato fue consumido casi totalmente; en estas mezclas se produjeron cantidades significativas de diacetilo y acetoína, compuestos volátiles de interés en quesos. En todas las mezclas se detectaron cambios en los niveles de AA reflejando su consumo por L90. Además, se observó que el perfil de catabolismo de AA se correlacionó con el perfil de actividad AT de esta cepa, y que los mayores niveles de degradación se obtuvieron en presencia de AKG, sobre todo a pH 7,0.

Conclusiones: Los resultados obtenidos permitieron incrementar el conocimiento acerca de la potencialidad de la cepa L90 para su uso como fermento adjunto mejorador del flavor. La información obtenida sirve como base racional para proponer estrategias dirigidas a incrementar la actividad metabólica involucrada en la producción de compuestos de importancia en las características organolépticas del queso.

SAMIGE - Fisiología Microbiana

MI 224

0146 - INDUCCIÓN DE FORMACIÓN DE BIOFLM EN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* POR RADIACIÓN UVA: ROL DE QUÓRUM SENSING Y RESPUESTA ESTRICTA

PEZZONI, Magdalena | PIZARRO, Ramon A. | COSTA, Cristina S

COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA - CENTRO ATÓMICO CONSTITUYENTES

Introducción y Objetivos: Los biofilms son comunidades de microorganismos que crecen adheridas a superficies. La formación de biofilm está regulada genéticamente, por ejemplo, por el sistema de quorum sensing (QS); además, ciertos factores externos pueden inducir la formación del mismo. Recientemente se describió que la radiación ultravioleta A (UVA) induce la formación de biofilm en *Pseudomonas aeruginosa*. En este trabajo se analizó la hipótesis de que la inducción de formación de biofilm por UVA obedezca a una activación del sistema de QS.

Materiales y Métodos: Las cepas empleadas fueron el tipo silvestre PAO1,mutantes de los principales sistemas de QS (SI: Las, SII: Rhl) y una mutante *relA*, deficiente en la síntesis de ppGpp (principal efector del sistema de regulación genética Respuesta estricta). Las cepas descriptas se hicieron crecer bajo dosis subletales de UVA o en oscuridad (control) en vasos de precipitado donde se colocaron cupones de vidrio a fin de permitir la formación de biofilms. Se retiraron cupones en diferentes etapas del crecimiento del cultivo (DO650 0.1, DO650 0.3 y a las 24 h) a fin de cuantificar los biofilms formados. En el caso de las cepas PAO1 y *relA* se tomaron además muestras de cultivo planctónico para extracción de RNA para ensayos de RT-PCR de los genes de QS que codifican para autoinductores (*lasI* y *rhlI*) y reguladores (*lasR* y *rhlR*) y para extracción de autoinductores (cuantificados mediante sistemas reporteros específicos).

Resultados: La exposición a dosis subletales de UVA indujo la formación de biofilm en la cepa PAO1, no así en las mutantes de QS. Se observó que extractos de PAO1 crecida hasta fase logarítmica bajo UVA activaron significativamente el SI de QS, comparado con el control en oscuridad. Similares resultados se observaron en el caso del SII de QS, con la diferencia de que la activación sólo se observó con extractos de cultivos en fase estacionaria. Se observó que dosis subletales de UVA inducen significativamente la transcripción de los genes *lasR* y *lasI* en fase logarítmica temprana (DO650 0.1), *rhlI*en fase logarítmica más avanzada (DO650 0.3), mientras que en la fase estacionaria se observó inducción de *lasR* y *rhlR*. No se observó activación de QS cuando se analizaron extractos obtenidos de la cepa *relA* crecida bajo UVA, tanto en fase logarítmica como estacionaria. De la misma manera no se registró inducción de la transcripción de ninguno de los genes de QS estudiados mediante RT-PCR en dicha cepa.

Conclusiones: -La exposición a bajas dosis de UVA induce la formación del biofilm en *P. aeruginosa* en forma dependiente, al menos en parte, de QS. -La radiación UVA subletal es capaz de inducir la transcripción de los genes que codifican para la síntesis de autoinductores y reguladores de los principales sistemas de QS. -La inducción del sistema de QS por dosis subletales de UVA depende del gen *relA*, indicando que la activación de este sistema por la radiación ocurre vía Respuesta estricta.

MI 225

0178 - LA EXPOSICIÓN A COMPUESTOS VOLÁTILES PRODUCIDOS POR *PROTEUS MIRABILIS* EN MEDIO DE ORINA ARTIFICIAL DISMINUYE LA VIABILIDAD DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* EN CULTIVOS PLANCTÓNICOS Y BIOFILMS

JUAREZ, Guillermo Esteban | **GALVAN, Estela Maria**

CONICET - CEBBAD, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES, LAB. PATOGÉNESIS BACTERIANA

Introducción y Objetivos: Las infecciones polimicrobianas pueden dar lugar a interacciones inter-especies que alteren el establecimiento, progresión y severidad del cuadro clínico. Dentro de las infecciones nosocomiales más comunes se encuentran las infecciones urinarias asociadas a catéter (IUAC), que frecuentemente son de carácter polimicrobiano. Previamente, en nuestro laboratorio se estudió el desarrollo de co-cultivos de cepas de *Klebsiella pneumoniae*(Kp) y *Proteus mirabilis* (Pm) aisladas de un paciente con IUAC en medio de orina artificial (MOA), y se describió que Kp sufre una pérdida de viabilidad tanto en co-cultivos planctónicos como en biofilms mixtos. La generación de compuestos volátiles (PmV) por parte de Pm, entre ellos amoníaco, podrían estar involucrados en el efecto bactericida. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de los PmV para afectar la viabilidad de Kp en cultivos planctónicos y biofilms. Además el estudio se extendió a otras especies aisladas de IUAC.

Materiales y Métodos: Se ensayaron diferentes sistemas de cultivo en MOA a 37°C, en donde Pm y Kp fueron inoculados en compartimentos que no permitieron el contacto físico entre células de diferentes especies, pero con un espacio aéreo en común. Cultivos de Kp en medio líquido, en superficie de medio sólido agar 1,5%, o bien, biofilms desarrollados durante 3 d sobre placas de poliestireno se expusieron a PmV generados por Pm en su vecindad. A distintos tiempos se determinó el número de UFC por el método de diluciones seriadas y posterior siembra en placas de LB (Kp) y LB con bajo sodio (Pm). También se evaluó el efecto sobre la biomasa de los biofilms mediante la técnica de cristal violeta.

Resultados: Los resultados mostraron que cultivos planctónicos de Kp sufrieron una pérdida de viabilidad de 3 logs luego de 18 h de exposición a PmV, en comparación con el control, siendo Kp indetectable a las 24 h. Cuando se sembraron gotas de Kp conteniendo 10^5 células en MOA agar y se incubaron por 48 h en presencia de PmV se detectó una reducción de la viabilidad de 4 logs. Tamponando el MOA a pH 6,5 con PIPES 0,1 M se observó un aumento de 1 log en el crecimiento de Kp control (sin PmV) y una reducción de sólo 1 log cuando se expuso a PmV. Por otra parte, la exposición de cultivos de *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Morganella morganii* a PmV durante 48 h redujo drásticamente la viabilidad de *E. coli* y *M. morganii*, pero no afectó a *E. faecalis*. Biofilms preformados de Kp expuestos a PmV mostraron disminución tanto el número de células viables (caída de 3 logs) como en la biomasa del biofilm (reducción del 41 ± 19%), comparados con los respectivos controles sin tratar.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que los compuestos volátiles producidos por *P. mirabilis* en MOA tienen un alto poder bactericida sobre bacterias gram negativas uropatógenas, incluso cuando éstas se encuentran formando estructuras de resistencia como lo son los biofilms.

MI 226

0226 - EVALUACION DEL POTENCIAL TECNOLOGICO DE BACTERIAS LACTICAS AISLADAS DE DISTINTOS NICHOS ECOLOGICOS

ALLENDEZ, Gastón | TABOADA, Natalia | ROSAS, Domingo | NEME, Héctor | **LOPEZ ALZOGARAY, Soledad**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO

Introducción y Objetivos: Las bacterias lácticas (BL) han estado íntimamente asociadas a la cultura humana y a su bienestar a lo largo de la historia. Tienen numerosas aplicaciones industriales, tales como cultivos iniciadores en la industria láctea, probióticos en suplementos dietarios y agentes de bioconversión. Los objetivos fueron aislar y caracterizar BL provenientes de diferentes fuentes y estudiar sus propiedades tecnológicas.

Materiales y Métodos: Las fuentes de BL fueron jugos de tunas (*Opuntia ficus indica*) (frutos de pulpa verde y morada) fermentados espontáneamente (25°C a 7 días) y sueros naturales usados como iniciadores en la elaboración de quesos caprinos de pasta blanda. Las BL se aislaron en medio de cultivo MRS agar (con 0,075% de azida sódica) (35°C, 48-72 h, microaerofilia); se realizó la caracterización bioquímica y molecular (a partir de la extracción del DNA genómico, con posterior amplificación, secuenciación del ARNr 16S y comparación de las secuencias en la base de datos GenBank).

Resultados: A partir de los jugos fermentados, se aislaron en total 28 BL: *Weissella cibaria* (*W. cibaria*) (20), *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) [4] y *Pediococcus pentosaceus* (*P. pentosaceus*) [4]. Todas las cepas fueron capaces de crecer en caldo MRS suplementado con etanol al 4% (v/v) (25°C, 24 h), mientras que se observó crecimiento nulo al 8% (v/v) de etanol. Se midió la capacidad de liberar la enzima β-glucosidasa (en MRS agar + 5% de arbutina, 2 a 6 días a 35°C, microaerofila), fuerte actividad se detectó en todas las cepas de *W. cibaria* y nula en las cepas de *P. pentosaceus*; esta actividad contribuye a las cualidades nutricionales de los alimentos fermentados. A partir de 4 muestras de suero natural, se aislaron en total 19 BL: *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) [6], *E. faecium* [10] y *P. pentosaceus* [3]. La capacidad de acidificación es un criterio muy importante en la selección de cepas para cultivos starters, siendo las cepas de *L. plantarum* (~ 0,7% de ácido

láctico, 16h a 37ºC en leche descremada) las más acidificantes. Las 10 cepas de *E. faecium* presentaron la mayor capacidad proteolítica en medio FSDA (fast and slow differential agar). Las 3 cepas de *P. pentosaceus* metabolizaron citrato (en medio sólido con citrato de calcio) y liberaron diacetilo-acetoína en leche descremada, propiedades que contribuyen al aroma de los productos lácteos. De los perfiles enzimáticos obtenidos con el sistema API ZYM, se destacaron los lactobacilos, con altos valores de fosfatasa ácida (30 nmoles) y de peptidasas (36 nmol de leucina, 35 nmol de valina and 32 nmol de cistina aminopeptidasas) (expresado en nmoles de cromóforo liberado); propiedades responsables de hidrolizar fosfopéptidos y de contribuir a la textura del queso.

Conclusiones: Las BL aisladas y caracterizadas en este estudio tienen potencial para ser usadas en la elaboración de alimentos fermentados, por su capacidad de contribuir a las características sensoriales, de calidad y de seguridad de los mismos.

MI 227

0453 - EL SISTEMA DE DOS COMPONENTES NTRYX DE *BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS* USDA 110 ESTÁ INVOLUCRADO EN LA TOLERANCIA A ESTRESES

HEGEL, Valeria Alejandra | LAMELZA, Florencia | ITURRALDE, Esteban Tomás | **LÓPEZ GARCÍA, Silvina Laura**

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: *Bradyrhizobium diazoefficiens* es una bacteria del suelo capaz de establecer simbiosis con plantas de soja a través de la formación de nódulos en las raíces, dentro de los cuales este rizobio reduce el N_2 atmosférico a NH_4^+, para luego suministrárselo a la planta. El establecimiento de una simbiosis efectiva está determinado por el estado fisiológico tanto de la bacteria como de la leguminosa hospedadora. Existen varios factores medioambientales que pueden afectar esta interacción y, en consecuencia, la actividad fijadora de N, entre los que podemos citar el estrés salino, osmótico, déficit hídrico, temperaturas y pH extremos, o la disponibilidad de nutrientes en el suelo. En este sentido, el estrés hídrico y salino constituyen los dos factores más limitantes en la producción agrícola. Para sobrevivir y adaptarse a los diferentes estreses ambientales que soportan, las bacterias han desarrollado vías específicas de transducción de señales, entre las que se destacan los sistemas de dos componentes. En particular, *B. diazoefficiens* expresa, entre otros sistemas de señalización, el sistema de dos componentes NtrYX, constituido por el sensor histidina quinasa NtrY, una proteína transmembrana, y el regulador de respuesta NtrX. Recientemente, hemos observado que este sistema participa en diversos procesos como la movilidad bacteriana, formación de biofilms, síntesis de exopolisacáridos y en la fijación de N_2, aunque aún desconocemos los mecanismos moleculares de acción. En otras bacterias está reportado que NtrYX está vinculado a la tolerancia al estrés salino. Con la finalidad de continuar con la caracterización del sistema, en este trabajo nos propusimos evaluar su implicancia en la tolerancia a diversos estreses ambientales.

Materiales y Métodos: Para llevar a cabo nuestro objetivo, obtuvimos un mutante delecional en el gen *ntrY* mediante la técnica crossover PCR (denominado "DELTA"*ntrY*), para luego evaluar su capacidad de crecimiento en medios a distintos pH, concentraciones salinas, compuestos tóxicos y déficit hídrico. Asimismo, nos propusimos estudiar el posible rol de la trehalosa como soluto osmoprotector en condiciones de estrés salino, evaluando la expresión relativa de genes involucrados en la biosíntesis de trehalosa y cuantificando la acumulación intracelular de dicho disacárido.

Resultados: Observamos que el mutante *ntrY* fue capaz de tolerar el estrés oxidativo y ácido; mientras que resultó sensible frente al estrés salino, osmótico, toxicidad iónica y a la desecación. Por otra parte, encontramos que las vías de biosíntesis de trehalosa se encuentran inhibidas en el mutante, aunque el mismo fue capaz de acumular este compuesto en niveles comparables a los de la cepa salvaje.

Conclusiones: A partir de los resultados obtenidos podemos inferir que el sistema NtrYX de *B. diazoefficiens* USDA 110 actúa como un regulador global en respuesta a estreses, lo que resulta de interés agronómico en pos de producir mejoras en el proceso simbiótico con plantas de soja, aunque resta aún profundizar cómo es la cascada de señalización.

MI 228

0534 - NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA ERRADICACIÓN DE BIOFILMS DE *CANDIDA TROPICALIS*

QUINTEROS, Melisa [1] | GARCÍA MARTÍNEZ, Joaquín C.[2] | PÁEZ, Paulina L.[3] | PARAJE, María Gabriela[1]

CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA. [1]; FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA [2]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. [3]

Introducción y Objetivos: La erradicación de biofilms resulta crucial en el estudio de las infecciones clínicas debido a que son considerados una forma de crecimiento multiresistente. A diferencia de los antibióticos, existen muy pocos medicamentos disponibles para el tratamiento de infecciones fúngicas, la mayoría de los cuales son fungistáticos. Además, la aparición continua de infecciones causadas por cepas de *Candida* resistentes agravado por la formación de biofilms, alienta la búsqueda de nuevos agentes quimioterapéuticos. Un nuevo enfoque es el estudio de sistemas aromáticos simples, tales como los dendrímeros de primera generación, específicamente los llamados oligoestirilbencenos (OSBs). Además de sus propiedades ópticas, recientemente se han reportado como una nueva clase de agentes antibacterianos promisorios, efectivos contra diferentes cepas bacterianas. Por otro lado, en trabajos previos, se obtuvo que una serie de compuestos OSBs, demostraron actividad antifúngica contra células planctónicas de *C. tropicalis* NCPF 3111.

Materiales y Métodos: La actividad antibiofilm se evaluó sobre un biofilm maduro de 48 h en placas multiwell por tinción con cristal violeta (CV) y posterior cuantificación por espectrofotometría UV-visible. Se sonicó y se determinaron las células sésiles viables por recuento en placa (unidades formadoras de colonias/ml), posterior a la exposición del biofilm a los diferentes tratamientos. El porcentaje de inhibición del crecimiento del biofilm se calculó con respecto al control sin tratamiento. La determinación de la actividad sinérgica, entre el OSB14 y AmB, se realizó mediante la técnica del tablero de ajedrez, calculando el índice fraccional de concentración inhibitoria (FICI). Se consideró sinergia cuando el valor de FICI obtenido fue menor a 0,5. Se evaluaron 3 concentraciones del compuesto OSB14, una subCIM (concentración 10 veces por debajo de la CIM), CIM y supraCIM (concentración 25 veces por encima de la CIM) , las cuales fueron 0,16, 16 y 400 µg/ml, respectivamente. La combinación se realizó con 4 concentraciones de AmB, 2 supraCIM (100 y 200 µg/ml), CIM (0,250 µg/ml) y una subCIM (0,0250 µg/ml).

Resultados: Los resultados obtenidos demostraron que el compuesto presentó actividad antibiofilm, con un porcentaje de erradicación del 60% a los valores correspondientes la CIM (*p<0,05). Además, se observó efecto sinérgico en combinación con AmB (a valores de CIM), llegando a un 90% de erradicación del biofilms de *C. tropicalis*(*p<0,05).

Conclusiones: El compuesto OSB14, solo y en combinación con AmB, podría ser una alternativa prometedora para el tratamiento de infecciones producidas por biofilms de *C. tropicalis*.

MI 229

0560 - ACTIVIDAD ANTIBIOFILM DE FLAVONOIDES PRENILADOS Y SUS COMBINACIONES CON ANFOTERICINA B FRENTE A *CANDIDA ALBICANS*

LOMBARDO CARAMELLO, Andrea Elizabet [1] | ORTEGA, Gabriela[2] | CABRERA, Jose Luis[2] | PERALTA, Mariana Andrea[2] | PARAJE, Maria Gabriela[1]

IMBIV-CONICET. CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA [1]; IMBIV- CONICET. DPTO. DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, FAC. CS. QCAS., UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA [2]

Introducción y Objetivos: *Candida albicans* es una especie con alta relevancia clínica por causar infecciones como candidiasis superficiales y sistémicas. El tratamiento puede resultar difícil, muchas veces asociado a la capacidad de la levadura para formar biofilm, con elevada resistencia a los agentes antifúngicos. Es constante la evaluación de compuestos de origen vegetal en combinación con antifúngicos de uso clínico en búsqueda de distintas estrategias para su erradicación. En trabajos previos se informó que un flavonoide prenilado, denominado 8PP, obtenido a partir de la especie cordobesa *Dalea elegans*, posee actividad antibiofilm frente a cepas de *Candida*. El presente trabajo propone estudiar la actividad sinérgica de Anfotericina B (AmB) en combinación con dos nuevos compuestos naturales.

Materiales y Métodos: Se trabajó sobre biofilm maduro de una cepa de *C. albicans* (ATCC 5314). Los flavonoides prenilados, (2S)-5,7,2'-trihidroxi-8,3'-diprenilflavanona (F2) y (2S)-5,7,2'-trihidroxi-5'-(1'",1'"-dimetilalil)-8-prenilflavanona (F3) se obtuvieron a partir del extracto hexánico de *Dalea boliviana*. La formación de biofilm se realizó en placa de 96 pocillos, se incubó durante 48 h a 37 °C y posteriormente se cuantificó mediante tinción con Cristal Violeta (CV) y lectura espectrofotométrica de la Densidad Óptica (DO) a 492 nm. La unidad de biomasa de biofilm (UBB) se definió como 0. 1 $DO_4$92nm = 1BBU. Se trabajó con dos concentraciones de F2 y F3 (10 µg/ml y 20 µg/ml) disueltos en dimetil sulfóxido (DMSO al 2%) y AmB (100 µg/ml), o sus combinaciones, las cuales se añadieron a los pocillo conteniendo los biofilms maduros, incubando a 37 °C durante otras 48 h. Los resultados se expresaron en BBU y como porcentajes relativos de inhibición con respecto al control (sin tratamiento).

Resultados: El compuesto F2 presentó baja actividad antibiofilm por sí solo (42 ± 4% y 34 ± 2% a 10 µg/ml y 20 µg/ml respectivamente), mientras que en combinación con AmB (100 µg/ml, 61%) la inhibición resulto mayor al 80%. El porcentaje de inhibición se incrementó comparado con la actividad que presentó el antifúngico de referencia solo (p<=0,05). El compuesto F3 mostró buena actividad antibiofilm por sí solo (65 ± 6% y 59 ± 8% a 10 µg/ml y 20 µg/ml, respectivamente). Las combinaciones de ambas concentraciones de F3

con AmB, tuvieron un porcentaje de inhibición del biofilm maduro superior al 85 %, observándose un marcado incremento de la inhibición (p<=0,05).

Conclusiones: Estos resultados sugieren que la actividad de AmB en el biofilm de *C. albicans* mejora cuando es combinada con los compuestos F2 y F3. Debido a que los biofilms de *Candida* presentan marcada resistencia a antifúngicos de uso clínico, es importante la obtención de nuevos compuestos activos frente a esta forma de crecimiento, por lo que ameritaría la continuidad de este tipo de investigaciones.

MI 230

0901 - ESTRÉS AGUDO POR CROMO Y COBRE Y SU RESPUESTA EN *MEYEROZYMA GUILLIERMONDII* 6N

BERNAL, Anahi Romina | POLITO, Franco Santiago | **CRUZ, Elias** | FERNANDEZ, Pablo Marcelo | NIETO PEÑALVER, Carlos Gabriel

PROIMI

Introducción y Objetivos: Los iones de metales pesados ejercen su toxicidad por múltiples mecanismos afectando la síntesis de diversos metabolitos y productos intermedios, generando especies reactivas del oxígeno (EROs) que afectan a componentes celulares e inducen la muerte de la célula. Con la finalidad de entender la repuesta y los mecanismos de defensa contra la toxicidad inducida por estos metales, se estudió la caracterización del estrés oxidativo agudo a la exposición a Cr(VI) y Cu(II) en la levadura endofítica de caña de azúcar Meyerozyma guilliermondii 6N.

Materiales y Métodos: La cepa 6N fue cultivada en medio líquido YM a 25°C con agitación (250 rpm) durante 4 h en ausencia de metal y luego estresadas durante 2 h con Cr(VI) 1 mM y Cu(II) 0,25 mM, solos y combinados. Se obtuvieron mecánicamente los extractos libres de células (ELCs) para cada condición de incubación y su control (sin metal). Se determinaron actividades enzimáticas antioxidantes, capacidad antioxidante total (TCA), EROs y proteínas carboniladas. La viabilidad celular se determinó por conteo de UFC.

Resultados: El estrés agudo provocado por la presencia de los metales pesados Cr(VI) y Cu(II), no afectó la viabilidad de la cepa 6N lo cual pudo deberse a que el tiempo de generación de esta cepa sea mayor al tiempo analizado. La respuesta antioxidante a la presencia de los estresantes metálicos no modificó las actividades enzimáticas superóxido dismutasa y tioredoxina reductasa. Solo se observó un aumento de la actividad catalasa del 57% (14,16 U mg^{-1}) como parte del sistema de protección a la toxicidad inducida por Cr(VI). Por su parte, la presencia del Cu(II) atenuó la toxicidad del cromo lo que se reflejó en la caída significativa en la actividad catalasa a valores cercanos a los basales. Adicionalmente se cuantificó la capacidad antioxidante total con radical $ABTS^{*}$+ y se expresó como % Inhibición por µ;g de proteína. El estrés por Cr(VI) se incrementó (45%) hasta alcanzar un valor de 0,41% I µ;g^{-1} frente al control 0,29% I µ;g^{-1}, mientras que las otras condiciones fueron similares al cultivo no estresado. A su vez, se determinó la presencia de EROs por microscopía de fluorescencia mediante el uso de la sonda dihidrorodamina 123 (DHR123), donde el mayor porcentaje de células marcadas se observó en presencia de cromo (0,86%). En las condiciones restantes los porcentajes de células fluorescentes fueron relativamente bajos. A si mismo los resultados de proteínas carboniladas no mostraron una diferencia significativa en todas las condiciones ensayadas con respecto al control.

Conclusiones: Estos resultados demuestran que el nivel de estrés oxidativo y la defensa antioxidante juegan un papel importante en los microorganismos, además pudo observarse que el Cr(VI) fue el que más efectos tóxicos provoco y el Cu(II) en mezclas de metales ejerce un efecto protector, esto puede ser útil para futuras investigaciones a fin de poder desarrollar tecnologías de biorremediación más eficaces.

MI 231

0580 - ANÁLISIS GLOBAL DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS ÁCIDO DE *RHIZOBIUM FAVELUKESII* LPU83

NILSSON, Juliet Fernanda | LUCHETTI, Abril | CASTELLANI, Lucas Gabriel | DRAGHI, Walter | TORRES TEJERIZO, Gonzalo A. | **PISTORIO, Mariano**

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: La limitación del cultivo de alfalfa en suelos ácidos está fuertemente determinada por su asociación simbiótica con la bacteria fijadora de nitrógeno, *Ensifer meliloti*. El manejo de dicha simbiosis es un factor importante para maximizar su producción de manera sustentable. Los rizobios usualmente son más sensibles a bajos pHs que las leguminosas. En este contexto, resulta relevante caracterizar la respuesta a la acidez de *Rhizobim favelukesii*, un rizobio tolerante a la acidez muy competitivo para la nodulación de alfalfa, pero ineficiente en la fijación biológica de nitrógeno, siendo un potencial factor riesgo al competir con *E. meliloti*.

Resultados: Para caracterizar dicha tolerancia se realizó un análisis de la respuesta global tanto del proteoma (*shotgun proteomics*) como el transcriptoma (RNA-Seq) bajo estrés ácido. Los resultados ómicos mostraron que este rizobio presenta una compleja respuesta multigénica, encontrándose varios metabolismos involucrados. Sin embargo, además de la visión global otorgada por los análisis ómicos resulta relevante estudiar la contribución real a la tolerancia a la acidez de los genes identificados expresados diferencialmente (GED). Por lo que se evaluó el fenotipo frente al estrés ácido de una serie de mutantes (*livK, braD*, LPU83$_2$016 y LPU83$_{pLPU83a\ 0021}$) a través de cinéticas de crecimiento y de muerte. Todos los mutantes presentaron un fenotipo diferencial bajo estrés ácido comparado con la cepa salvaje. Asimismo, se evaluó la respuesta a la acidez de una cepa de *R. favelukesii* curada de su pSym, ya que el 60% de los genes del pSym fueron inhibidos en condiciones de acidez. Como resultado dicha cepa evidenció un menor tiempo de duplicación en estrés ácido comparado con su cepa parental, sugiriendo que una menor expresión de los genes presentes en el pSym ante el estrés podría contribuir a un gasto de energía que en la cepa curada no sucede, aportando así energía extra para el crecimiento. Los resultados ómicos revelaron además una expresión diferencial en numerosas proteínas asociadas a la síntesis del peptidoglicano. En consecuencia se evaluó la permeabilidad celular a través de un ensayo de la actividad β-galactosidasa, donde las células expuestas al estrés ácido presentaron una menor permeabilidad. Dichas modificaciones podrían otorgarle a *R. favelukesii* una mayor barrera contra la entrada de H+.

Conclusiones: Todos estos resultados en principio apoyan y ponen de manifiesto la utilidad, potencia y fiabilidad de los resultados obtenidos con las técnicas masivas y apuntan, además, a que *R. favelukesii* presenta 2 tipos de respuesta. Una global donde se observan grandes cambios en el metabolismo celular, incrementando la respiración y la biosíntesis celular; consecuencia en parte del deterioro celular por las altas concentraciones de H+. Sumado en paralelo a una respuesta para afrontar y contrarrestar el estrés ácido como el metabolismo de GABA, cambios en la envoltura celular, aumento de la concentración de histidina, entre otros.

MI 232

0566 - ROL DEL EXTREMO C-TERMINAL DE LA ENZIMA FITOENO SINTASA EN LA REGULACIÓN DE LA CAROTENOGÉNESIS EN LA ARQUEA HALÓFILA HALOFERAX VOLCANII

CERLETTI, Micaela [1] | RABINO, Agustin[1] | FERRARI, Celeste[1] | PAGGI, Roberto[1] | POETSCH, Ansgar[2] | DE CASTRO, Rosana[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB-CONICET-UNMDP, FCEYN [1]; SCHOOL OF BIOMEDICAL SCIENCES, UNIVERSITY OF PLYMOUTH [2]

Introducción y Objetivos: Los carotenoides son compuestos isoprenoides coloreados (naranja-rojizo) sintetizados por las plantas, algas y microorganismos. Cumplen importantes funciones en todos los seres vivos y han recibido considerable atención por sus aplicaciones biotecnológicas y sus beneficios para la salud humana. Las haloarqueas son microorganismos que habitan en ambientes hipersalinos (>1,5 M NaCl) y que producen pigmentos de C50 denominados bacterioruberinas (Bctr). La ruta de biosíntesis de los carotenoides está conservada entre las haloarqueas y los organismos fotosintéticos y comienza con la conversión de dos moléculas de pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP) a fitoeno, compuesto precursor de todos los carotenoides. Este paso, considerado el punto regulatorio clave en la carotenogénesis, es catalizado por la enzima fitoeno sintasa (PSY). Recientemente se reportó un mecanismo de regulación que involucra la degradación de PSY mediante proteasas ATP-dependientes como Clp (plantas) y LonB (haloarqueas). La proteasa Lon está altamente conservada en los tres dominios de la vida y, a pesar de su importancia en la fisiología celular, se conoce muy poco acerca de la manera en que reconoce sus blancos de acción. En *Escherichia coli*, LonA degrada al inhibidor de la división celular SulA reconociendo una secuencia hidrofóbica de 20 aa ubicada en el extremo C-terminal de esta proteína. En base a estos antecedentes el objetivo de este trabajo fue validar la relevancia de la porción C-terminal de PSY como elemento regulador de la biosíntesis de carotenoides en la haloarquea *Haloferax volcanii*.

Materiales y Métodos: Se construyeron mutantes de *H. volcanii* que expresaban diferentes versiones de PSY truncadas en el C-terminal: PSY entera (PSYwt), PSY -10 aa (S10), PSY -20 aa (S20) y PSY -34 aa (S34), y se caracterizaron en cuanto a su crecimiento, producción de pigmentos (Bctr) y contenido de PSY. Ademas, se realizó un alineamiento y búsqueda de motivos conservados (programas MEME y GLAM2) usando las secuencias C-terminal de las PSY de diversas haloarqueas.

Resultados: Las cepas S20 y S34 presentaron mayor contenido de Bctr (2 veces) que PSYwt, por el contrario, la cepa S10 mostró menor pigmentación (2 veces). Aplicando espectrometría de masa se determinó que la mayor pigmentación de S34 se correlacionó con un incremento en el contenido de proteína PSY (2,4 veces). A través de un análisis *in silico*, se encontró un motivo bastante conservado dentro de la región regulatoria clave de PSY: SR[HRV][HR][TG]RV[SED][GR][LW].

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el sitio de reconocimiento de PSY relevante para su estabilización/degradación se encuentra en la región -10 a -20 del extremo C-terminal. La remoción de los últimos 10 aa del C-terminal podría dejar más expuesta esta región regulatoria, facilitando la degradación de PSY, y en consecuencia, reduciendo la pigmentación (cepa S10).

SAMIGE - Interacción Procariota- Eucariota

MI 233

0034 - ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE LINFOCITOS T GAMMA DELTA Y CÉLULAS ENDOTELIALES RENALES EN RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN POR LA TOXINA SHIGA TIPO II

ROSSO, David Antonio[1] | ALVAREZ, Romina Soledad[2] | SHIROMIZU, Carolina Maiumi[1] | IBARRA, Cristina[2] | AMARAL, María Marta[2] | **JANCIC, Carolina Cristina** [1]

INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL CONICET - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA [1]; LABORATORIO DE FISIOPATOGENIA, DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA, UBA [2]

Introducción y Objetivos: Las células T gamma delta constituyen un subconjunto funcionalmente especializado de linfocitos T que actúan como sensores tempranos de estrés celular e infección. El Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) asociado a diarrea es una consecuencia de la infección por *ESCHERICHIA COLI* productora de toxina Shiga (Stx) y es la causa más frecuente de insuficiencia renal aguda pediátrica en Argentina. Está bien establecido que la Stx tipo 2 (Stx2) causa daño directo a las células renales, y además induce una inflamación local que involucra la secreción de citoquinas y quimioquinas por células renales endoteliales y epiteliales, y el reclutamiento de neutrófilos y monocitos. En este trabajo, nuestro objetivo fue investigar la participación de los linfocitos T gamma delta en la patogénesis del SUH.

Materiales y Métodos: Para llevar a cabo dicho objetivo, analizamos el estado de activación de las células T gamma delta humanas, purificadas a partir de sangre periférica, después de la incubación con sobrenadantes obtenidos de cultivos primarios de células endoteliales glomerulares humanas (HGEC) tratadas con diferentes concentraciones de Stx2 (0.001-1 ng/ml). Por otra parte, evaluamos la activación de las células T gamma delta luego de ser cultivadas con HGEC estimuladas con Stx2, como así también la viabilidad del endotelio. Para evaluar el estado de activación de los linfocitos T gamma delta, analizamos la expresión del marcador de activación CD69 por citometría de flujo y la producción de TNF-alpha por ELISA.

Resultados: Nuestros resultados indican que los linfocitos T gamma delta exhibieron un aumento en la expresión de CD69 ($p<0.05$, n= 7) y en la secreción de TNF-alpha ($p<0.05$, n= 3) cuando fueron incubados con sobrenadantes de HGEC estimuladas con Stx2. También observamos un aumento en la expresión de CD69 ($p<0.05$, n= 5) y en la producción de TNF-alpha ($p<0.05$, n= 5) después de 24 horas de co-cultivo con HGEC. Llamativamente, la mortalidad de HGEC inducida por Stx2 se vio incrementada por la presencia de células T gamma delta ($p<0.05$, n= 4).

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que los linfocitos T gamma delta podrían contribuir a la patogénesis de SUH a través del daño endotelial y de la generación de un microambiente pro-inflamatorio.

MI 234

0138 - LA INOCULACIÓN CON *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* MEJORA LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO EN LECHUGA

CASANOVAS, Elda Mabel | SANTA CRUZ, Juan Francisco | VERKUYL, Melanie | TAJAN, Carlos

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA (UNMDP), BALCARCE, ARGENTINA

Introducción y Objetivos: La creciente demanda de alimentos y el cambio climático impulsan la expansión de la agricultura hacia suelos marginales, donde los cultivos están frecuentemente expuestos a la salinidad. El estrés salino genera desequilibrios en el estado iónico y nutricional, sobre producción de especies reactivas de oxígeno (EAO) y pérdida de productividad. Se ha demostrado que *Azospirillum spp.*, rizobacteria promotora del crecimiento vegetal, es capaz de aliviar algunos de los efectos negativos de diferentes tipos de estrés abiótico. El objetivo de este trabajo fue estudiar si la mejor respuesta a la salinidad en plantas de lechuga provenientes de semillas inoculadas con *A. brasilense*, se asocia a un menor daño oxidativo.

Materiales y Métodos: Semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Elisa) fueron esterilizadas superficialmente y luego inoculadas con 10^9 células de *A. brasilense* Sp245.semilla^-1 (I), o con buffer fosfato (C). Las semillas se sembraron en contenedores de 330 cm^3 y se cultivaron a 25°C con 12 horas de fotoperíodo. A los 20 días desde la siembra se aplicaron los tratamientos de estrés salino mediante riego por capilaridad con soluciones 0, 50 ó 100 mMol.m^-3 de NaCl. Luego de 15 días de aplicado el estrés se determinaron: peso seco (PS), contenido relativo de agua (CRA), concentración de malondialdehído (MDA) y pérdida de electrolitos (%PE), en parte aérea (PA) y en raíces.

Resultados: Se observó un efecto promotor del crecimiento aéreo y radical en las plantas I. El PF de raíz, el PS aéreo y el número de hojas, fueron significativamente superiores para las plantas I, especialmente en las regadas con NaCl 100 mM. La salinidad afectó negativamente el estado hídrico. En la situación de estrés más severa, las plantas C presentaron un valor de CRA de 65,7%, mientras que las I presentaron un CRA de 79,8%. El nivel de MDA, un producto de la peroxidación de lípidos de membrana, conjuntamente con la estabilidad de las membranas son indicadores del daño oxidativo. Tanto en 50 como en 100 mM de NaCl, las plantas I evidenciaron un menor contenido de MDA que las C. En las plantas I los distintos niveles de salinidad no afectaron el nivel de peroxidación de lípidos. La inoculación disminuyó significativamente el daño sufrido por las membranas celulares, lo cual se refleja en un menor %PE. Este parámetro se incrementó significativamente en las plantas C sometidas al nivel de estrés salino más severo. El menor contenido de MDA de las plantas I es coincidente con el menor daño de membranas, dado que los incrementos de %PE se asocian al daño en las membranas inducido por el estrés oxidativo.

Conclusiones: La inoculación con *A. brasilense* Sp 245 mejoró el crecimiento y el estado hídrico en plantas de lechuga creciendo bajo condiciones de estrés salino. Estas respuestas estuvieron asociadas a disminuciones en los niveles de indicadores de daño oxidativo, representados por niveles inferiores de MDA y de daño en las membranas celulares en plantas I creciendo bajo condiciones de estrés salino.

MI 235

0250 - EFECTOS EN EL ESTADO ANTIOXIDANTE DE *MENTHA PIPERITA* CULTIVADA BAJO ESTRÉS HÍDRICO E INOCULADA CON PGPR

CHIAPPERO, Julieta | CAPPELLARI, Lorena | PALERMO, Tamara | BANCHIO, Erika

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO-DPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR- FCEFQYN

Introducción y Objetivos: Las plantas aromáticas son importantes por su producción de metabolitos secundarios destinados a diversas industrias. Debido a su naturaleza sésil las mismas se ven afectadas por diversos tipos de estrés entre ellos el estrés hídrico. Este genera un incremento de especies reactivas del oxígeno (ROS), cuya alta concentración es tóxica para la planta, causando daños en las proteínas, inhibición enzimática así como oxidación de lípidos de membrana y ADN, eventualmente llevando a la muerte celular. En función de eliminar las ROS, hay diversos mecanismos antioxidantes que son activados por las plantas.

Materiales y Métodos: Plantines de *M. piperita* fueron inoculadas con cepas PGPR (*Pseudomonas fluorescens* WCS417r y *Bacillus amyloliquefaciens* GB03). El estrés hídrico se provocó por supresión de riego, se realizaron 3 tratamientos: Estrés moderado (EM), Estrés severo (ES) y control (C). Todas las plantas fueron regadas con medio Hoagland, hasta que inicia el estrés hídrico, en este momento las plantas EM reciben agua destilada estéril hasta 10 días previos a la cosecha y las plantas C hasta la cosecha. Se realizó la determinación de malonildialdehido (MDA), actividad enzimática de SOD y PX, fenoles totales (TPC), capacidad antioxidante total y acumulación de prolina.

Resultados: Se observó que en las plantas inoculadas y cultivadas bajo EM y ES se produjo un incremento significativo en la actividad SOD y PX y en la capacidad antioxidante total en relación a plantas no inoculadas sometidas a EM o ES; la misma tendencia fue observada en el contenido de TPC. Por otro lado se observó que el contenido de prolina no se modificó en plantas estresadas y disminuyó cuando las plantas fueron sometidas al estrés e inoculadas. El nivel de oxidación lipídica, determinado por los valores de MDA, fue aproximadamente en un 50-70% menor en plantas inoculadas dependiendo de la severidad del estrés, en comparación a plantas EM y ES no inoculadas.

Conclusiones: Los PGPR demostraron la capacidad de disminuir el estado oxidativo generado por el estrés hídrico en plantas de *M. piperita*, reduciendo el contenido de MDA, previniendo la acumulación de ROS mediante el incremento en la actividad de SOD y PX, además incrementando el contenido de TPC con el consecuente aumento de capacidad antioxidante total. Estos resultados fortalecen la idea de que la inoculación con PGPR revierte los efectos negativos del estrés hídrico en plantas aromáticas.

SAMIGE - Microbiología ambiental y del suelo, Biodiversidad

MI 236

0123 - PROPÁGULOS INFECTIVOS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN PARCHES E INTERPARCHES DE UN ECOSISTEMA ÁRIDO DEL MONTE AUSTRAL

RE, Micaela | ÁLVAREZ, Anahí Soledad

FACULTAD DE CIENCIAS DEL AMBIENTE Y LA SALUD. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

Introducción y Objetivos: Los ecosistemas áridos se caracterizan por la distribución de la vegetación en mosaicos espaciales, con montículos de vegetación (parches) separados por suelo desnudo (interparches). Por su actividad biológica, los parches representan un componente estructural y funcional clave, en donde los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) cumplen un rol fundamental promoviendo el desarrollo vegetal en condiciones de déficit hídrico y escasez de nutrientes. Los propágulos de HMA (esporas, raíces colonizadas y redes de hifas) se activan mediante diversos factores ecológicos, para iniciar la simbiosis micorrícica. La desertificación de ecosistemas áridos deteriora la cobertura vegetal y la calidad biológica del suelo. El objetivo de este trabajo fue determinar la carga de propágulos infectivos de HMA en suelo de parches e interparches del "Parque Universitario Provincia del Monte", un ecosistema árido degradado del Monte Austral (Neuquén).

Materiales y Métodos: Se realizaron 5 transectas de 50 metros, tomando muestras de suelo de parches e interparches (n=50). Se analizó la textura y la concentración de fósforo extractable. El recuento de propágulos se realizó a través de la técnica Número Más Probable (NMP), en la que se diluyó suelo de cada muestra en una proporción 1:10 con suelo previamente esterilizado proveniente de la misma muestra, en una serie de seis diluciones, por triplicado, sembrando una planta hospedadora (*Medicago sativa*) por dilución y réplica, cultivándose durante 6 semanas. La presencia (+) o ausencia (-) de micorrizas en cada planta se realizó por observación al microscopio óptico de raíces teñidas con azul de tripán, calculando la probabilidad de presencia de propágulos según las tablas probabilísticas del NMP. El análisis estadístico consistió en una prueba T ($p<0,05$), utilizando Infostat.

Resultados: Los resultados evidenciaron que los suelos presentaron textura arenosa, con una carga de propágulos infectivos de HMA mayor en parches que en interparches (8,28 10^2 y 1,8 10^2 NMP/gr de suelo, respectivamente) con diferencias significativas ($p=0,045$), presentando el mismo comportamiento en la concentración de fósforo extractable (12,13 y 5,62 ppm, respectivamente).

Conclusiones: Se concluye que ante las limitantes concentraciones de fósforo en estos suelos, la presencia de los propágulos infectivos actuarían como factor ecológico crítico en el desarrollo y establecimiento de la vegetación. La vegetación de los parches estarían conservando la calidad microbiana del suelo, con una carga de HMA que favorece la simbiosis con las plantas, aumentando la resiliencia de este ecosistema árido. La presencia de propágulos en interparches sugeriría la existencia de ecotipos resistentes a los factores de perturbación.

MI 237

0128 - MAPEO ENTRE EL SENTIDO DE ROTACION DE LOS MOTORES FLAGELARES Y EL COMPORTAMIENTO DIFUSIVO DE LA NATACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI*

FIER, Guido [1] | HANSMANN, David[2] | BUCETA, Ruben C.[2]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÍSICAS DE MAR DEL PLATA [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÍSICAS DE MAR DEL PLATA/ DEPARTAMENTO DE FÍSICA -FCEYN- UNMDP [2]

Introducción y Objetivos: Los motores flagelares de *E.coli*, *Vibrio alginolyticus* o *Pseudomonas aeruginosa* poseen la capacidad de rotar en sentidos horario (CW) y antihorario (CCW). La concentración de la proteína reguladora de respuesta activa CheY-P, en el entorno del switch del C-ring del motor flagelar, determina el sentido de rotación del flagelo. A su vez, el switch está compuesto por proteínas de cambio (FliN, FliG y FliM), con las cuales interactúa CheY-P para efectuar la transición CCW-CW. Es conocido que la cantidad de proteínas FliM que intervienen en la transición de CCW a CW no es igual a las de la transición de CW a CCW. Nuestros objetivos son: 1) Modelar la propuesta de dos concentraciones críticas de CheY-P para explicar dichas transiciones y las distribuciones de tiempo de los modos de movimiento. 2) Comprender como los cambios en la rotación de los flagelos determinan la difusión de las bacterias flageladas en los medios líquidos que habitan.

Materiales y Métodos: Implementamos una ecuación diferencial estocástica (EDE) fenomenológica para la concentración de CheY-P en el entorno de los flagelos de *E.coli*. Establecemos las distribuciones de tiempo (DT) de los modos rotatorios, y calculamos el CW bias, en condiciones con/sin estímulos (Quimiotaxis). Analizamos como los cambios en la concentración promedio de CheY-P inducidos por la Quimiotaxis modifican el CW bias, y cómo de este modo regulando el sentido de rotación de los flagelos estas bacterias pueden modificar su dispersión en los medios que habitan. Para ello complementamos este enfoque con un modelo propio capaz de reproducir las trayectorias estocásticas de *E.coli* y establecer el desplazamiento medio cuadrático.

Resultados: Reproducimos exitosamente las DT medidas experimentalmente para el comportamiento de Run-and-Tumble de *E.coli* moviéndose en un medio sin estímulos. Además, analizamos como se modifican las DT bajo la Quimiotaxis. Encontramos un comportamiento sigmoideo con una rápida saturación en el CW bias en función de la concentración de CheY-P; la cual presenta un buen ajuste con los datos experimentales. El modelo reproduce satisfactoriamente el estrecho rango operacional en la concentración de CheY-P para los motores flagelares. Finalmente, el análisis de las trayectorias estocásticas muestra que a tiempos largos *E.coli* difunden, con constante de difusión dependiente del CW bias, es decir es modulado por la Quimiotaxis.

Conclusiones: Presentamos un marco teórico satisfactorio para analizar cómo impactan las transiciones CCW-CW de los motores flagelares en la motilidad de *E.coli*. Dada la similitud en los motores flagelares y las

proteínas reguladoras de respuesta en distintas bacterias flageladas nuestro modelo es generalizable a diversas especies, investigación que realizamos actualmente.

MI 238

0142 - ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD FÚNGICA EN COMUNIDADES DE MUSGOS Y SUSTRATO ASOCIADO EN LA RESERVA NATURAL PUNTA LARA (BUENOS AIRES) UTILIZANDO ELECTROFORESIS EN GEL DE GRADIENTE DESNATURALIZANTE (DGGE)

VALDÉS, Fabricio Emanuel [1] | ORTIZ, Jimena[2] | DEVIA, Edgardo Agustín[2] | ABARCA, Camila[1] | VELAZQUEZ, Maria Silvana[1] | FAGGIOLI, Valeria Soledad[2] | CABELLO, Marta Noemi[3]

INSTITUTO DE BOTÁNICA SPEGAZZINI (FCNYM-UNLP-CICPBA) [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA - MARCOS JUÁREZ [2]; COMISIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS [3]

Introducción y Objetivos: Los musgos y hongos asociados, presentan características colonizadoras en los ambientes disturbados. Las actividades antrópicas en áreas naturales, incluyen modificaciones en el paisaje e introducción de especies exóticas, alterando la microdiversidad vegetal presente. Este trabajo tiene como objetivo registrar la riqueza y diversidad fúngica, mediante el uso de la Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR) y electroforesis en gel de acrilamida de gradiente desnaturalizante (DGGE), asociada a comunidades de musgos presentes en selvas marginales, bosques nativos y bosques exóticos en un sector de Reserva Natural Punta Lara.

Materiales y Métodos: La recolección de las muestras de musgos y sustrato rizosférico se realizó entre los meses de mayo y junio de 2018. Se seleccionaron sitios fisonómicos correspondientes a ambientes nativos y exóticos. El acondicionamiento de las muestras se realizó en el Instituto de Botánica Spegazzini de La Plata (Buenos Aires). En la Estación Experimental Agropecuaria INTA de Marcos Juárez (Córdoba), se realizó la extracción de ADN por Método SDS y Kit de extracción Power Soil, MoBio. Se amplificaron fragmentos ITS1/ITS4 (700pb) e ITS1-CG/ITS2 (300pb) utilizando una PCR anidada. Los productos de la PCR se corrieron en un DGGE, y se fotografió el gel en un transiluminador de UV luego de la tinción con GEL RED. El análisis de la fotografía se realizó utilizando el programa GEL COMPARE II. Se calculó el índice de riqueza específica (S) de cada muestra y el índice de diversidad de Shannon y Weaver (H). Mediante un análisis de componentes principales (ACP) y prueba T Student bilateral (p=0,05), se compararon las relaciones entre la riqueza y diversidad de especies, en sitios correspondientes a ambientes nativos/exóticos, y la relación entre organismos asociados a sustrato/musgo.

Resultados: El análisis de DGGE reveló la presencia de asociados fúngicos en sustrato y musgos. Se observó un mayor número de bandas y de mayor intensidad en las muestras de sustrato en comparación a los musgos. EL ACP agrupó muestras de sustrato con mayores índices de diversidad. La prueba T Student presentó valores significativamente mayores de riqueza (p=0,0020) y de S-W (p=0,0149) en el sustrato, cuando se compararon las variable sustrato/musgo. Al incorporar la variable nativo/exótico se observaron diferencias significativas (p=0,0276) en los ambientes exóticos, con índices de diversidad mayores en el suelo.

Conclusiones: En este trabajo se reporta una mayor diversidad de organismos fúngicos asociados al sustrato rizosférico de los musgos en comparación a la diversidad asociada en musgos. Estas diferencias se presentan notablemente en los ambientes exóticos, debido al establecimiento de diaspóras fúngicas por medio de plantas invasoras. El estudio de la dinámica de las comunidades fúngicas en musgos y en los sustratos asociados constituye una alternativa para realizar comparaciones entre ambientes alterados.

MI 239

0163 - EL ROL DE LOS HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN LA INVASIÓN DE UNA ESPECIE ARBÓREA EXÓTICA

ABARCA, Camila [1] | BARRERA, Marcelo Daniel[2] | BO, Clara[1] | VALDÉS, Fabricio Emanuel[1] | CABELLO, Marta Noemí[1] | VELAZQUEZ, María Silvana[1]

INSTITUTO DE BOTÁNICA SPEGAZZINI (FCNYM-UNLP-CICPBA) [1]; UNIVERIDAD NACIONAL DE LA PLATA [2]

Introducción y Objetivos: La asociación con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) puede ser un factor determinante para la composición y estructura de las comunidades vegetales. El rol que ejercen estos microorganismos en el establecimiento de plantas exóticas ha sido ampliamente documentado. El objetivo de este estudio fue analizar el efecto que la invasión de la especie arbórea exótica *Ligustrum lucidum* ejerce sobre las asociaciones micorrícicas en los bosques nativos de *Celtis ehrenbergiana*, evaluar la colonización de ambas especies y determinar cuál es el rol que cumplen los HMA en este proceso de invasión.

Materiales y Métodos: El estudio se llevó a cabo por medio de un ensayo de invernáculo de seis meses de duración, entre mayo y octubre de 2018. Se inocularon plántulas de *L. lucidum* y *C. ehrenbergiana* con suelo

proveniente de parches de bosque con vegetación nativa típica y parches completamente invadidos sin presencia de árboles nativos. Para reducir la colonización micorrícica arbuscular en los tratamientos control se utilizó un fungicida comercial con benomyl. Al finalizar el ensayo se midieron porcentajes de colonización micorrícica de las raíces y parámetros de crecimiento vegetativo. Además se realizó un recuento e identificación de las esporas de HMA presentes en las macetas. Los datos de colonización para ambas situaciones fueron analizados mediante un test ANOVA no paramétrico Kruskal-Wallis y los parámetros de crecimiento se sometieron a un ANOVA bifactorial (P=0,05). Con los datos obtenidos del recuento de las especies fúngicas se realizó un análisis de componentes principales (PCA).

Resultados: Los valores de colonización total de *L. lucidum* fueron significativamente mayores en las plantas inoculadas con suelo del bosque invadido (h= 13, 36, P=0,0037), mientras que la colonización total de *C. ehrenbergiana* fue mayor en las plantas inoculadas con suelo del bosque nativo (h=7,70, P=0,0502). Los parámetros de crecimiento no mostraron diferencias entre tratamientos. Se recuperó un total de 12 especies fúngicas. El PCA agrupó a las muestras por especie vegetal y por fuente de inóculo, indicando que existen diferencias tanto en las especies de HMA presentes en ambos sitios como en las especies fúngicas con las que cada árbol establece simbiosis.

Conclusiones: Los resultados obtenidos indican que *L. lucidum* tiene la capacidad de establecer simbiosis con los HMA nativos en etapas tempranas de la invasión, y su establecimiento desencadena cambios en la microbiota del suelo que a largo plazo favorecen la micorrización de la exótica e interfieren con la micorrización de la especie nativa. Los datos aquí reportados contribuyen a la comprensión de los complejos mecanismos que operan en los fenómenos de invasión, demostrando que los HMA pueden tener un rol en estos procesos, no solo beneficiando a la especie invasora sino también actuando como una barrera que dificulta la regeneración de las plantas nativas.

MI 240

0247 - ROL DEL MECANISMO DE *QUORUM SENSING* EN LA CAPACIDAD BIOCONTROLADORA DE BACTERIAS RIZOSFERICAS DE MANÍ (*ARACHIS HYPOGAEA* L)

NIEVAS, Fiorela Lujan | **FORESTO, Emiliano** | GIORDANO, Walter Fabian | BOGINO, Pablo Cesar

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO-DPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR- FCEFQYN

Introducción y Objetivos: El maní (*A. hypogaea*) es una leguminosa de importancia agronómica para la provincia de Córdoba, ya que constituye una economía regional casi exclusivamente dedicada a la exportación. Resulta fundamental cuidar la calidad del grano que se produce, razón por la cual es necesario aplicar estrategias que impidan el desarrollo de enfermedades. En la rizosfera de esta leguminosa se encuentra establecida una amplia y diversa comunidad microbiana que interacciona entre si y con su hospedador a traves de un mecanismo de comunicación denominado *quorum sensing* (QS). Este proceso depende de la producción de señales químicas que se acumulan hasta alcanzar un umbral de concentración que permite la regulación coordinada de la expresión de genes y por lo tanto del comportamiento bacteriano. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el rol de QS sobre la capacidad de biocontrol de un aislamiento rizosferico de maní, identificado como *Burkholderia* sp. Q53, sobre el patógeno fúngico *Sclerotium rolfsii*, agente causal del marchitamiento blanco.

Materiales y Métodos: La actividad biocontroladora de esta bacteria fue claramente establecida en ensayos *in vitro* e *in vivo*. La detección de moléculas señales de QS del tipo acil homoserin lactonas (AHL) fue determinada mediante bioensayos utilizando las cepas biosensoras *C.violaceum* CV026 y *A. tumefaciens* NTL4 (pZLR4); y mediante HPLC-MS/MS. Para la determinación de la actividad antifúngica tanto de la cepa wt como de las respectivas mutantes, se colocó un taco del hongo de aproximadamente 5mm de diámetro en el centro de la placa conteniendo el medio PDA. A continuación a una distancia de unos 3 cm se sembró el inóculo bacteriano. El efecto antagonista se determinó midiendo el crecimiento fúngico del margen del micelio en dirección a la bacteria.

Resultados: Los resultados mostraron que la cepa es capaz de producir moléculas QS con diferente longitud de cadena de acilo (entre 6 y 14 átomos de C). Por otra parte, análisis moleculares permitieron identificar dos sistemas de QS responsables de sintetizar estas moléculas señal: QS1 (genes *cepI/R*) para AHLs de cadena acilo corta; y QS2 (genes *bafI/R*) para AHLs de cadena acilo larga. En función de ello fueron construidas mutantes defectivas en la AHL sintasa y en la proteína reguladora de unión a AHL. En general pudo observarse que tanto la cepa wt como las mutantes en QS inhibieron el crecimiento *in vitro* de *S. rolfsii*, sin embargo la mutación en los genes del sistema de QS1 mostraron mayor porcentaje de inhibición respecto de las mutantes del sistema QS2, indicando que la señalización por QS dependiente de este último sistema es crucial para el desarrollo de la actividad antifúngica d esta bacteria.

Conclusiones: Estudios posteriores resultan necesarios para determinar si el compuesto capaz de ejercer esta capacidad antifúngica es secretado por la bacteria como un metabolito secundario y a la vez determinar el mecanismo de expresión del mismo a través de QS. De acuerdo a lo expuesto se concluye que la cepa nativa de *Burkholderia* sp. Q53 aislada de la rizosféra de maní, establecería interacciones benéficas con esta

leguminosa, promoviendo su crecimiento a través de actividades biocontraloras contra agentes patógenos de origen fúngico.

MI 241

0457 - INTERACTION OF *BACILLUS SUBTILIS* WITH A FUNGAL PATHOGEN DRIVES SELECTIVE MUTATION OF REGULATORY GENES FOR NATURAL PRODUCT PRODUCTION

ALBARRACÍN ORIO, Andrea [1] | PETRAS, Daniel[2] | TOBARES, Romina Alin[3] | SAYAGO, Pamela[1] | JUNCOSA, Florencia[1] | MOYANO, Alejandro[3] | DORRESTEIN, Pieter C.[2] | DUCASSE, Daniel A[4] | SMANIA, Andrea M.[3]

IRNASUS, UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA, CONICET, FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS [1]; COLLABORATIVE MASS SPECTROMETRY INNOVATION CENTER, UNIVERSITY OF CALIFORNIA SAN DIEGO [2]; CIQUIBIC-CONICET, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS [3]; INSTITUTO DE PATOLOGÍA VEGETAL - INTA [4]

Introduction and objectives: Various environmental species of bacteria and fungi coexist and interact showing antagonistic and mutualistic behaviors, mediated by exchange of small diffusible metabolites, driving microbial adaptation to complex communal lifestyles. The soil bacterium *Bacillus subtilis* and related species are used extensively as biological control agents in agriculture, mainly because they produce a wide variety of antimicrobial compounds. Here, we show that a wild strain of *Bacillus subtilis* (Bs) undergoes heritable phenotypic variation following interaction with the soil fungal pathogen *Setophoma terrestris* (ST) in co-culture.

Materials and methods: We combined phenotypic characterization; non-targeted liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) based metabolomics analysis and comparative genomics to distinguish the differences between Bacillus subtilis before and after interacting with the fungus.

Results: Mass spectrometry-based metabolome analysis revealed a differential profile in Bs before (pre-ST) and after (post-ST) interacting with the fungus, which paradoxically involved the absence of lipopeptides (surfactin and plipastatin) production and yet antifungal activity in post-ST variants. Apart from the high fungal inhibition activity, we observed that the ability to form robust biofilms *in vitro* was a prevailing feature of post-ST. Disruption of the *srfAA* gene implicated in surfactin synthesis resulted in an abolition of the ST-driven antifungal activity and ST growth inhibition levels similar to those observed for post-ST variants. The post-ST phenotype was stable after several passages on solid media, indicating that a mutation-based process underlies this phenotypic adaptation process. We finally investigated the genetic bases of post-ST conversion by performing comparative whole-genome analyses and observed that all conversion events were convergently originated from loss-of-function mutations in the *comA* and *comP* genes of the ComQPXA quorum-sensing system.

Conclusions: Mutations in the ComQXPA quorum-sensing system appeared to be responsible for the stable phenotypic and metabolomics profile changes and might be necessary for an appropriate activity/functioning of antifungal metabolites that mediate an adaptive response in conditions of competitive interaction with the fungus.

SAMIGE - Microbiología Molecular

MI 242

0016 - CARACTERIZACION DE UN SISTEMA TIPO I DE SECRECION DE PROTEINA RTX EN *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM*

RUSSO, Daniela [1] | DOWNIE, J.Allan[2] | ZORREGUIETA, Angeles[1]

IIBBA-CONICET Y FUNDACION INSTITUTO LELOIR [1]; JOHN INNES CENTER [2]

Introducción y Objetivos: Identificamos el sistema de secreción de proteínas tipo I (SST1) en el plásmido simbiótico pRL1JI de la cepa 248 de *Rhizobium leguminosarum* RssDM (RTX-secretion system). El locus plasmídico está compuesto por un transportador ABC (ATP Binding Cassette) y su adaptador MFP (Membrane Fusion Protein), rssD y rssM respectivamente. Rio abajo y en el mismo sentido, dos ORFs codifican proteínas de la familia RTX (Repeated in ToXin), RTX-1 y RTX-2. Las proteínas RTX están ampliamente distribuidas y comprenden diversas funciones como la formación de poros en membranas lipídicas, proteasas, lipasas o bacteriocinas. Nos proponemos estudiar el rol del sistema secretor RssDM y las proteínas RTX en el ciclo de vida de la bacteria.

Materiales y Métodos: En este trabajo se emplearon cepas mutantes derivadas de *R. leguminosarum bv. viciae* 248 (Rlv 248) afectadas en los genes rssD, rtx-1, rtx-2 y rtx-1 rtx-2. Se transfirió el cósmido pIJ1552 que contiene una región de 30kb proveniente del pSym que comprende el locus rssD rssM rtx-1 rtx-2. Este

cósmido fue transferido la cepa Rlv 248 curada del pSym y mutagenizado en el gen rssD. Se analizó el secretoma de cepas de Rlv 248 mediante LC-MS y LFQ empleando tres réplicas de las muestras proteicas. Se evaluó la capacidad inhibitoria del crecimiento de los rizobios en placa en agar blando co-polimerizado con la cepa indicadora (sensible) e inoculando la cepa a testear (actividad bacteriocina). Los estudios de la capacidad de nodulación y competencia de los rizobios se realizaron inoculando plántulas de *Pisum sativum* y *Vicia fabra*.

Resultados: El análisis comparativo (LFQ) de los secretomas de las cepas derivadas de Rlv 248 WT y la mutante rssD sugiere que secreción de la proteína Rtx-1, codificada en el pRL1JI, depende del sistema SST1 RssDM mientras que las proteínas Rtx-2, RzbA y NodO son independientes. En cuanto al análisis del secretoma de la cepa curada del pSym y portadora del cósmido pIJ1552, se verificó que confiere la capacidad de secretar Rtx-1, Rtx-2 y péptidos derivados de Rzb248 mientras que la interrupción de rssD eliminó la capacidad de exportar Rtx-1. Los resultados del estudio de la actividad bacteriocina sugiere la presencia de al menos dos actividades inhibitorias del crecimiento de rizobios en Rlv 248. Una potente actividad bacteriocina presente en la cepa curada del pSym fue capaz de inhibir el crecimiento de la cepa silvestre. Esta bacteriocina no estaría codificada en el pRL1JI sino que asociada al cromosoma. La presencia del pSym reprimió fuertemente esta actividad mientras que el cósmido lo hizo en forma parcial, lo que sugiere que contiene un modulador de su actividad. La segunda actividad bacteriocina inhibió el crecimiento de rizobios pertenecientes a *Mesorhizobium spp* y requirió del sistema RssDM funcional, sin embargo, no estaría asociada a las proteínas RTX-1 y RTX-2. Finalmente, los ensayos realizados en plántulas de arveja no evidenciaron diferencias significativas entre la cepa rssD y la WT en la capacidad de nodulación. Sin embargo, la competencia del rizobio se vio reducida significativamente en la cepa mutante rssD al ser co-inoculada con la cepa silvestre.

Conclusiones: El sistema tipo I RssDM codificado en el pRL1JI de *R. l. viciae* 248 es responsable de la secreción de la proteína RTX-1 mientras que RTX-2, Rzb 248 y NodO son independientes. La actividad bacteriocina asociada al sistema secretor RssD fue capaz de inhibir el crecimiento de rizobios emparentados y no depende de RTX-1 ni RTX-2. Los ensayos en plantas sugieren que el sistema RssDM no sería esencial en la nodulación aunque tendría participación en el desempeño del rizobio durante la competencia por colonizarla.

MI 243

0044 - OPTIMIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE EDICIÓN GÉNICA CRISPR/CAS9 EN *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICA O157:H7

RIVIERE, Nahuel | MARQUES DA SILVA, Wanderson | CATALDI, Angel | LARZABAL, Mariano

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA

Introducción y Objetivos: La baja eficiencia en la obtención de mutantes para las cepas Escherichia coli patógenas generó la implementación del sistema CRISPR/Cas9. El sistema CRISPR/Cas9 utiliza un ARN guía (ARNg) el cual hibrida de manera complementaria con la doble hebra de ADN (dsADN) blanco. La asociación ARNg-dsADN es reconocida por la endonucleasa Cas9 que produce un corte en dsADN del gen de interés. El aporte de un nuevo ADN donor (ADNd) combinado con el sistema de recombinación homóloga lambda Red permite incrementar considerablemente la eficiencia de mutagénesis. Se estableció como objetivo optimizar la metodología de edición génica CRISPR/Cas9 en Escherichia coli enterohemorrágica O157:H7.

Materiales y Métodos: Se seleccionó el gen no esencial mipA como blanco de mutación de una cepa Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7. A partir de la secuencia de mipA se identificó la región PAM (protospacer adjacent motif) de mayor eficiencia de corte mediante el software online CHOPCHOP (http://chopchop.cbu.uib.no). Se diseñó y clonó la secuencia del ADN guía (codifica para el ARNg) para dicha región PAM en el vector pCRISPR-SacB. Luego, una cepa EHEC O157:H7 fue transformada con el vector pCRISPR-SacB-ADNg. Posteriormente, la cepa fue transformada con el vector pCasRed que codifica tanto para la endonucleasa Cas9, necesaria para el corte de la doble hebra de ADN, como para la maquinaria de recombinación homóloga lambda Red compuesta por los genes exo, beta y gamma. Durante la transfomación también fue incorporado el ADNd que posee un codón stop prematuro y una deleción de 30 nucleótidos en relación al gen blanco. La recombinación del ADNd en el gen blanco generó una bacteria EHEC O157:H7 deficiente en la expresión del gen mipA. En presencia de sacarosa la bacteria puede eliminar al vector pCRISPR-SacB-DNAg. Esto nos permitiría volver a diseñar un nuevo ADNg contra otro gen de interés para la obtención de múltiples mutantes.

Resultados: Para la optimización de la metodología de CRISPR/Cas9 se evaluó la eficiencia de obtención de mutantes de la cepa EHEC O157:H7. Se demostró que la concentración óptima de plásmido pCRISPR-SacB-DNAg para la transformación de la cepa EHEC O157:H7 fue de 100 ng totales. Por otro lado, fue necesaria una concentración de 25 mM de ADNd para la obtención de un mayor número de bacterias mutantes. También se pudo observar un mayor número de bacterias mutantes al ser recuperadas a 30°C durante 3 hs luego de ser transformadas. Estas condiciones permitieron obtener la máxima eficiencia de mutagénesis en EHEC O157:H7.

Conclusiones: La optimización de la técnica de CRISPR/Cas9 permitió obtener cepas mutantes EHEC O157:H7 del gen no esencial mipA. Los resultados demostraron que CRISPR/Cas9 es una técnica, versátil, reproducible y altamente eficiente para la obtención de mutantes en EHEC O157:H7.

MI 244

0626 - CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LOS PRIMEROS AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE *ESCHERICHIA COLI* PORTADORES DEL SUBTIPO 2F DE TOXINA SHIGA

KRÜGER, Alejandra[1] | PASCAL, Stefanía[1] | LORENZO LÓPEZ, Juan Ramiro[2] | MUTTERS, Nico T.[3] | PARMA, Yanil R.[1] | ROSSEN, John W. A.[4] | **LUCCHESI, Paula M. A.** [1]

LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, CIC, FCV, UNCPBA [1]; CIVETAN, CONICET, CIC, FCV, UNCPBA [2]; CENTER FOR INFECTIOUS DISEASES, MEDICAL MICROBIOLOGY AND HYGIENE, HEIDELBERG UNIVERSITY HOSPITAL [3]; DEPARTMENT OF MEDICAL MICROBIOLOGY, UNIVERSITY MEDICAL CENTER GRONINGEN, UNIVERSITY OF GRONINGEN [4]

Introducción y Objetivos: Entre las cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (STEC), las que son portadoras del subtipo 2f han sido aisladas de aves, principalmente palomas, y de casos de enfermedad en humanos (generalmente diarrea moderada y en ocasiones síndrome urémico hemolítico). En algunas regiones, como los Países Bajos, la frecuencia en humanos parece ser mayor que en otras, pero esto puede relacionarse con la capacidad de identificar este subtipo de toxina, ya que no todas las metodologías que se aplican para STEC pueden detectarlo. Mientras que en Argentina este subtipo aún no ha sido detectado en aislamientos obtenidos de pacientes, nuestro grupo reportó su presencia en muestras provenientes de palomas. El objetivo de este trabajo fue aislar cepas positivas para *stx2f* a partir de dichas muestras, y realizar una caracterización genética y análisis comparativo con cepas de otros países.

Materiales y Métodos: Se analizaron colonias individuales por PCR con primers específicos para *stx2f*. Se cultivaron las colonias positivas y se extrajo el ADN bacteriano con un kit comercial (Microbial DNA isolation kit, MoBio). Se empleó 1 ng para la preparación de la biblioteca y secuenciación empleando una plataforma Illumina MiSeq. Se obtuvieron lecturas pareadas de 250 pb con una cobertura mínima de 60 veces. El ensamble de novo de los contigs se realizó utilizando el software CLC Genomics Workbench (Qiagen). Mediante análisis del gen rpoB se determinó la especie bacteriana. Las secuencias genómicas se anotaron mediante RAST y se analizaron empleando diferentes herramientas bioinformáticas como BLAST, VirulenceFinder, PlasmidFinder, ResFinder, entre otras.

Resultados: Se obtuvieron dos aislamientos *stx2f*-positivos denominados P13 y T47, correspondientes a una muestra de materia fecal de paloma y a una muestra de hisopado de paloma con diarrea de un palomar, respectivamente. El análisis in silico confirmó que ambas cepas eran Escherichia coli portadoras del subtipo stx2f y pertenecientes al serotipo O75:H2. Se identificó también en ambas cepas la presencia de otros genes asociados a virulencia (*astA, eae, tir, espA, espB, espF, nleA, nleB, nleC, cdt*), del gen *mdf*(A) asociado a resistencia a antibióticos (macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B), y de un plásmido similar al pO111. En la cepa P13 se identificó, además, la presencia del gen bfpA en un aparente entorno plasmídico (plásmido IncFIB). El alelo de *bfpA* identificado correspondió a un subtipo recientemente descripto. El análisis comparativo reveló que estos aislamientos presentan un perfil genético de virulencia y de resistencia a antibióticos semejante a una cepa *stx2f* positiva del mismo serotipo, aislada de paloma en Italia en 1997.

Conclusiones: Nuestros resultados indican la presencia en Argentina de cepas STEC stx2f-positivas con numerosos factores de virulencia y alta similitud con la cepa aislada en Italia. Asimismo, dado que el gen bfpA es característico de cepas *E. coli* enteropatógenas típicas, al igual que la cepa italiana, P13 sería un híbrido STEC/EPECt.

MI 245

0093 - APLICACIÓN DE LA TÉCNICA PMA-QPCR PARA DETECTAR VIABILIDAD DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA (STEC) EN HAMBURGUESAS DE CARNE VACUNA

REY, María de Los Ángeles [1] | CAP, Mariana[1] | VAUDAGNA, Sergio[2] | MOZGOVOJ, Marina[2]

INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE AGROINDUSTRIA, INTA [1]; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CIA, INTA. CONICET [2]

Introducción y Objetivos: El PMA (propidium monoazide) es un colorante que se intercala en el ADN de bacterias muertas con su membrana plasmática comprometida e inhibe su amplificación por PCR. La membrana bacteriana es impermeable al colorante por lo que sólo puede penetrar células cuyas membranas se encuentren afectadas. Una vez en el interior de la célula, el PMA se une al ADN irreversiblemente intercalándose entre las bases gracias a la fotoactivación del colorante con luz azul LED. El complejo PMA-ADN así formado inhibe la acción de la polimerasa. De esta forma, la señal obtenida por qPCR solo es atribuible a células viables remanentes post procesamiento. El objetivo del presente trabajo fue poner a punto la técnica PMA-qPCR para evaluar viabilidad de STEC en hamburguesas de carne vacuna.

Materiales y Métodos: Para ello, se determinó la concentración mínima de PMA necesaria para inhibir la señal de bacterias muertas, la posible influencia del PMA en la amplificación de distintas concentraciones de bacterias

vivas y, la capacidad de discriminar diferentes concentraciones de bacterias vivas en presencia de una alta concentración de bacterias muertas, tanto en cultivo como en hamburguesa. La cepa seleccionada para los ensayos fue STEC O157:H7 (EDL 933). El PMA se agregó junto con el PMA enhancer y se sometió a un proceso de fotoactivación durante 15 min. Luego se realizó la extracción de ADN y se amplificó un fragmento del gen stx2 por PCR en tiempo real.

Resultados: La concentración mínima de PMA necesaria para inhibir la señal de 5 log UFC/ml de bacterias muertas fue de 100 µM. La ausencia de influencia del PMA sobre la amplificación de distintas concentraciones de células viables se demostró comparando los valores de Ct obtenidos entre un grupo de muestras con concentraciones crecientes de bacterias vivas (3 a 6 log UFC/ml) tratado con PMA y otro grupo igual de muestras sin el colorante. Al no observarse diferencias significativas entre esos grupos se confirmó la ausencia de influencia. La capacidad de discriminar entre bacterias vivas y muertas se evaluó preparando un grupo de 9 muestras conteniendo 5 log UFC/ml de bacterias muertas combinadas con concentraciones crecientes de células vivas, desde 1 hasta 7 log UFC/ml, tanto en cultivo como en hamburguesa. Los resultados mostraron una disminución del Ct consistente con el aumento de la concentración de células vivas. Esto evidencia la capacidad del PMA para discriminar células viables de no viables, tanto en cultivo como en hamburguesa.

Conclusiones: La técnica de PMA-qPCR resulta una alternativa novedosa y con gran potencial para detectar viabilidad de STEC en hamburguesas.

MI 246

0094 - *ESCHERICHIA COLI* VEROTOXIGÉNICO O157:H7: SUBTIPIFICACIÓN MOLECULAR DE AISLAMIENTOS DE BOVINOS, HUMANOS Y ALIMENTOS DE LA REGIÓN PAMPEANA

GONZALEZ, Juliana

LAB. MICROBIOLOGÍA ALIMENTOS - LAB. INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA. [1]; LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA, CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA [2]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* verotoxigénico (VTEC) es uno de los patógenos más comúnmente transmitido al hombre a través de los alimentos, siendo el ganado su principal reservorio. El serotipo O157:H7 es el más frecuentemente aislado de casos de síndrome urémico hemolítico (SUH) en Argentina y en el mundo. Sin embargo, no todos los aislamientos O157:H7 tienen la misma capacidad de infectar y de enfermar al hombre. Existen métodos de subtipificación molecular que permiten analizar la diversidad genética y distinguir subtipos de VTEC O157:H7, como el análisis de polimorfismos de nucleótido simple (SNP), el análisis de múltiples *loci* VNTR (MLVA) y la determinación de grupos filogenéticos. Con el propósito de evaluar la diversidad genética y detectar subtipos, analizamos 43 cepas de VTEC O157:H7 aisladas de bovinos, humanos y alimentos en la región pampeana de Argentina.

Materiales y Métodos: Las cepas se subtipificaron mediante análisis de 2 SNP, (*ECs2357* 539 A>C y *tir* 255 T>A), y determinación de filogrupos. Estos datos de subtipificación por SNP y filogrupos se complementaron con datos de MLVA obtenidos previamente, amplificando 8 *loci* VNTR O157:H7-específicos. El SNP en *ECs2357* (539 C>A) se detectó por PCR utilizando *primers hairpin*. El SNP presente en *tir* (255 T>A) se analizó por PCR y secuenciación. Mientras que para la determinación de filogrupos se empleó una PCR cuádruple.

Resultados: Los resultados mostraron que el 79 % de los aislamientos presentó el alelo *ECs2357* 539 A>C A, mayormente asociado a cepas hipervirulentas del clado 8. En relación al alelo *tir* 255 T>A, el 92 % de los aislamientos analizados presentó el alelo T, asociado también a cepas con una incrementada virulencia en humanos. Un alto porcentaje de aislamientos (95,4 %) fue asignado al filogrupo E, al igual que la mayoría de las cepas VTEC O157:H7 de diferentes regiones geográficas. A diferencia de estos resultados que mostraron una alta homogeneidad, el MLVA, en base a marcadores altamente polimórficos y no relacionados con virulencia, puso de relieve una alta diversidad genética entre las cepas circulantes.

Conclusiones: En conclusión, los resultados obtenidos no permiten distinguir la presencia de subtipos entre las cepas argentinas de distintos orígenes, mostrando la circulación casi exclusiva de aislamientos VTEC O157:H7 pertenecientes al clado hipervirulento 8, al filogrupo E y portadores del alelo *tir* 255 T>A T, tanto en cepas de origen humano como bovino. Por este motivo, todos los aislamientos de origen bovino representarían un potencial riesgo para la salud pública. La presencia en el ganado bovino de cepas O157:H7 con características similares a las cepas que causan enfermedades en humanos podría contribuir a explicar la alta incidencia de SUH en Argentina.

MI 247

0190 - CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE UN MUTANTE DE *BURKHOLDERIA AMBIFARIA T16* EN LA VÍA DEL 2-METIL CITRATO

VINACOUR, Matias Esteban [1] | KRONBERG, Maria Florencia[2] | MUNARRIZ, Eliana Rosa[2] | NIKEL, Pablo Ivan[3] | RUIZ, Jimena Alicia[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIOCIENCIAS AGRÍCOLA AMBIENTALES (INBA-CONICET) [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIOCIENCIAS AGRÍCOLA AMBIENTALES/ CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA FAUBA [2]; THE NOVONORDISK FOUNDATION- CENTER OF BIOSUSTAINABILITY [3]

Introducción y Objetivos: El propionato es uno de los ácidos grasos de cadena corta más abundante en las células. Asimismo, también se generan grandes cantidades de propionil-CoA como resultado de la beta-oxidación de ácidos grasos de cadena impar, del catabolismo de ácidos grasos ramificados y de la degradación de aminoácidos ramificados. Considerando que el propionato y sus catabolitos derivados son letalmente tóxicos para las células, resulta fundamental el rol de las vías metabólicas involucradas en su detoxificación. La vía del 2-metil citrato (2-MC) es la ruta metabólica principal involucrada en el catabolismo y detoxificación del propionato en bacterias y hongos. Sin embargo, además de este rol, también se ha encontrado que el funcionamiento de esta vía metabólica resulta fundamental para la virulencia y capacidad antagonista en micobacterias y hongos filamentosos, respectivamente. *Burkholderia ambifaria T16* es una cepa bacteriana aislada de la rizósfera de cebada en la localidad de Junín (Pcia. de Buenos Aires). Esta bacteria posee características muy interesantes entre las cuales se incluyen su potente actividad funguicida y nematicida. Con el fin de evaluar si el funcionamiento de la vía del 2-MC afectaba dichas actividades se construyó una cepa mutante en la cual se eliminó, mediante una deleción precisa el gen *prpB* que codifica para la enzima metil isocitrato liasa, la cual cataliza el último paso de la vía del 2-MC. Para la construcción de esta mutante y teniendo en cuenta que *B. ambifaria T16* es resistente a la mayoría de los antibióticos convencionales, fue necesario construir un plásmido incapaz de replicar en *Burkholderia* que portara la resistencia al antibiótico trimetropima (Tmp). Para ello, se utilizaron los módulos de los plásmidos pSEVA (*S*tandard *E*uropean *V*ector *A*rchitecture) a los cuales se les adicionaronlos genes que confieren la resistencia a Tmp. El nuevo plásmido se denominó pSEVA712S.

Resultados: Se comparó la actividad hemolítica en Agar Sangre, el antagonismo in vitro frente al hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* yel índice de virulencia contra el nemátodo *Caenorhabditis elegans* entre la cepa salvaje y la mutante *prpB*. Los resultados mostraron que la eliminación del gen *prpB*afectó negativamente todas las características analizadas. Teniendo en cuenta que todos los parámetros evaluados responden al sistema de *Quorum sensing*, se decidió examinar la producción de acilhomoserinlactonas de cadena corta (AHLscc) en la cepa salvaje y en la mutante, utilizando para ello a la cepa biosensora *Cromobacterium violaceum* que produce violasceína en presencia de AHLscc. En la mutante *prpB* prácticamente no se detectó producción de violasceína, mientras que si se detectó en la cepa salvaje. De los resultados de estos experimentos, podemos concluir que la inactivación de la vía del 2-MC afecta negativamente la producción de AHLscc en *B. ambifaria T16*, disminuyendo también dramáticamente su capacidad antagonista y de virulencia.

MI 248

0194 - VIGILANCIA MOLECULAR DE MENINGITIS BACTERIANAS CAUSADAS POR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE, HAEMOPHILUS INFLUENZAE* Y *NEISSERIA MENINGITIDIS* EN PARAGUAY, 2013-2018.

LEÓN AYALA, María Eugenia [1] | KAWABATA, Aníbal[1] | NAGAI, Minako[1] | ROJAS, Liliana[1] | ZÁRATE, Noemí[2] | LEGUIZAMÓN, Myrian[3] | GÓMEZ, Gloria[4] | IRALA, Juan[5]

LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA [1]; HOSPITAL GENERAL PEDIÁTRICO NIÑOS DE ACOSTA ÑU [2]; INSTITUTO DE PREVISIÓN SOCIAL [3]; HOSPITAL NACIONAL DE ITAUGUA [4]; INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL [5]

Introducción y Objetivos: La meningitis bacteriana es una infección grave que produce altos índices de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, a pesar de la exitosa introducción de vacunas conjugadas dirigidas a estas bacterias. *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis* son causas importantes de meningitis y otras enfermedades invasivas, que necesitan un diagnóstico rápido y un tratamiento preciso. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de las meningitis bacterianas causadas por *S.pneumoniae*, *N. meningitidis* y *H. influenzae* en Paraguay, mediante técnicas moleculares, durante el periodo 2013-2018.

Materiales y Métodos: Estudio observacional descriptivo retrospectivo de corte transversal. Se estudiaron por técnicas moleculares, 1178 muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes de todas las edades con sospecha de meningitis bacteriana (con resultados de cultivo microbiológico negativo), que fueron remitidas por los centros centinelas al Laboratorio Central de Salud Pública, durante el periodo 2013-2018, en el marco de la vigilancia epidemiológica de meningitis bacterianas en Paraguay. Para la identificación de *S.pneumoniae*, *N. meningitidis* y *H.influenzae* se empleó una PCR en tiempo real recomendada por los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades.

Resultados: Se incluyeron en este estudio 1178 muestras de LCR de pacientes de todas las edades. El 39,0% del total de muestras corresponde a niños menores de 5 años (n=459), el 26,0% al grupo etario de 5 a 14 años (n=308), el 12,0% al de 15 a 24 años (n=138), 6,0% al de 25 a 34 años (n=72), 4,0% al de 35 a 44 años (n=48), 45 a 54 años (n=47) y 55 a 64 años (n=48) respectivamente, 3,0% al grupo de mayores de 65 años

(n=40) y 2% sin datos (n=18). Se analizaron 710 muestras de pacientes masculinos y 468 del sexo femenino. Se confirmaron por PCR en tiempo real un total de 193 casos de meningitis bacterianas, hallándose una prevalencia general del 16,4%. Se observó una frecuencia de la enfermedad del 32,5% en el año 2013 (13/40), 10,1% en 2014 (18/179), 17,8% en 2015 (31/164), 16,4% en 2016 (29/177), 13,7% en 2017 (48/349) y 20,1% en 2018 (54/269). De los casos confirmados 107 fueron causados por *S. pneumoniae* (56,0%), 12 por *H. influenzae* (6,0%) y 74 por *N. meningitidis* (38,0%). La distribución de la enfermedad por grupo de edad mostró una mayor frecuencia en pacientes >65 años (27,5%). La mayor frecuencia de meningitis bacterianas causadas por *S. pneumoniae* se observó en el grupo de >65 años (22,5 %), por *H. influenzae* en el grupo de <5 años (2,2%) y por *N. meningitidis* en el grupo de 55- 64 años (6,3%).

Conclusiones: En este estudio se pudieron confirmar un número importante de casos de meningitis bacterianas con resultados de cultivo microbiológico negativo (n=193), encontrándose mayor frecuencia de la enfermedad en pacientes mayores de 65 años. Teniendo en cuenta que esta enfermedad es grave y puede ser mortal o dejar secuelas permanentes el uso de técnicas moleculares (PCR) puede ser de gran valor diagnóstico. Estos resultados resaltan la importancia de la vigilancia molecular de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* y en Paraguay, aportando un mejor conocimiento de la carga de enfermedad y el impacto de las estrategias de inmunización en la incidencia de las meningitis bacterianas.

MI 249

0228 - COMPARACIÓN GENÓMICA INTRA E INTERESPECÍFICA DE *PSEUDOMONAS* CON INTERACCIONES POSITIVAS Y NEGATIVAS CON PLANTAS

RONDÓN, Johnma | RONDÓN, Yossmayer

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

Introducción y Objetivos: La destacada versatilidad metabólica y variabilidad genética observada en bacterias del Género *Pseudomonas* han permitido a miembros de este grupo ser ecológicamente exitoso en la colonización de un amplio rango de ambientes. *Pseudomonas* constituye un grupo de gran plasticidad desde el punto de vista genético y ecológico, hecho que dificulta la delimitación taxonómica de especies dentro del grupo. Allí se encuentran especies de vida libre, simbiontes y patógenos facultativos de animales y plantas, dicho potencial genético y metabólico ha despertado el interés de su estudio, especialmente bajo un enfoque biotecnológico en la producción de insumos y el mejoramiento de procesos: biofertilizantes y biopesticidas, biorremediación de compuestos orgánicos complejos, control de patógenos, entre otros. En la literatura se destacan interacciones positivas de *Pseudomonas*promoviendo el crecimiento de plantas o defendiéndolas de fitopatógenos a través de la producción de metabolitos tóxicos, así como también interacciones negativas con cepas patógenas. Diferencias genómicas entre cepas y especies de *Pseudomonas* que se asocian a plantas expondrían la dualidad de estilos de vida (simbiontes o patógenos). Descubrir las determinantes genéticas responsables de esta dualidad y así poder establecer un límite genómico que permita explicar el *switch* fenotípico presente en este grupo proporcionaría elementos de valor para comprender la diversidad ecológica dentro y entre especies del grupo.

Materiales y Métodos: Para cumplir con esta meta fueron seleccionados cuatro genomas completos y curados de *Pseudomonas* disponibles en el *GenBank*. Dos del grupo *P. fluorescens* (*P. protegens* CHA0 y *P. fluorescens* SBW25) y dos del grupo *P. syringae* (*P. syringae pv. syringae* B728a y *P. syringae pv. tomato* DC3000). Utilizando herramientas bioinformáticas de alineamientos profundos con *MUMmer 3*

Resultados: fueron encontrados elementos génicos comunes dentro de los genomas analizados (*core-genome*), algunos de ellos citados por mediar procesos propios de la interacción con plantas y un alto porcentaje de elementos genéticos únicos, tales como genes de biocontrol que participan en la producción de metabolitos tóxicos del tipo diacetilfloroglucinol, fenazinas, pioluteorina y pirrolnitrina que estuvieron ausentes en *P. syringae*.

Conclusiones: La variabilidad en el contenido génico a nivel intraespecífico fue un hallazgo de especial atención en este trabajo (*pan-genome*) pudiendo ser considerado como uno de los principales factores responsables de la adaptación a nuevos nichos y/o estilos de vida. El secuenciamiento de más genomas será necesario para dilucidar las bases que definen el estilo de vida en estas especies, su capacidad de adaptación y las relaciones filoecológicas que existen entre ellas.

MI 250

0237 - ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS MOLECULARES EN LOS QUE PARTICIPA EL REGULADOR DEL SISTEMA DE DOS COMPONENTES ACTJ/ACTK DE *ENSIFER MELILOTI* UTILIZANDO HERRAMIENTAS PROTEÓMICAS

VACCA, Carolina | ALBICORO, Francisco Javier | CAFIERO, Juan Hilario | VERA, Leda Mailen | LAGARES, Antonio | DEL PAPA, María Florencia

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: El estrés ácido presente en los suelos cultivables es uno de los principales factores que afectan el normal establecimiento y desarrollo de la simbiosis entre *E. meliloti* y alfalfa actuando en detrimento de una correcta nutrición nitrogenada de la planta. Superar dicho factor para la obtención de una simbiosis exitosa requiere del conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la tolerancia a la acidez, especialmente en el rizobio que es altamente sensible al estrés ácido. Nuestro grupo de trabajo ha detectado que el regulador transcripcional ActJ y la histidina quinasa ActK están vinculados con la tolerancia a la acidez y constituyen un sistema altamente conservado en *E. meliloti* y en otras rizobacterias. El objetivo de este trabajo consistió en hallar los marcadores moleculares asociados al rol de ActJ.

Materiales y Métodos: Se caracterizaron y compararon los proteomas de *E. meliloti* 2011 salvaje y *actJ*ˆ- cultivadas en condiciones de pH ácido u óptimo. Se obtuvieron las proteínas citoplasmáticas y una fracción enriquecida de proteínas de membrana de cultivos rizobianos (pH 7,0 o 5,6) que se hallaban en fase de crecimiento exponencial. La identificación y cuantificación diferencial de proteínas fue realizada utilizando un espectrómetro de masa con analizador orbitrap acoplado a un nano-HPLC (LC/MS-MS). Se utilizó un valor de p <= 0,05 de un análisis por *t-student* para determinar si la expresión de una proteína se encontraba alterada. Para validar la posible participación de los marcadores diferenciales en la tolerancia al estrés ácido, mutantes en varios de los marcadores fueron evaluados en su capacidad de crecer en condiciones ácidas y neutras y la inducción de otros marcadores se analizó mediante fusiones transcripcionales.

Resultados: El análisis se centró en: I) proteínas de clase I (PI), aumentadas o disminuidas en *actJ*ˆ- con respecto a la cepa salvaje; y II) proteínas de clase II (PII) presentes o ausentes en *actJ*ˆ-. Del total de proteínas analizadas, se identificaron 68 PI y 32 PII en la condición óptima y 51 PI y 12 PII en la condición ácida. El análisis global de los resultados permitió evidenciar que mientras en la condición neutra las funciones metabólicas se encuentran fuertemente representadas, a pH ácido se destaca la presencia de proteínas relacionadas con biogénesis de la membrana; metabolismo y transporte de carbohidratos, aminoácidos e iones y traducción de señales. Se encontró además que en ambas condiciones NrtA y DegP1 se hallaban diferencialmente expresadas en *actJ*ˆ- y que ActJ podría inducir la expresión de *emr*A a pH ácido y reprimirla a pH neutro.

Conclusiones: Este estudio ha demostrado que la aplicación de una aproximación proteómica provee no solo un conjunto de marcadores de expresión diferencial, sino la posibilidad de identificar entre ellos ciertos marcadores cuya alteración conduce a una clara disfunción fenotípica asociada al estrés en estudio y ha permitido avanzar en la construcción de una imagen de los procesos celulares en los que ActJ participa.

MI 251

0264 - PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *TRICHOMONAS VAGINALIS* EN MUJERES EMBARAZADAS ATENDIDAS EN UN HOSPITAL PÚBLICO DEL CONURBANO BONAERENSE

RAMPULLA, Santiago Sebastian | IRURTIA, Maria Cecilia | MAGDALENO, Maria Alejandra | CASANOVA, Norma | LEONINO, Patricia | PEREYRA, Adriana | MONTENEGRO, Graciela

HOSPITAL

Introducción y Objetivos: La tricomoniasis es una infección de transmisión sexual (ITS) tratable causada por el parásito Trichomonas vaginalis. Representa la ITS no viral más frecuente (OMS 2019) cuya prevalencia está infraestimada por la falta de utilización de métodos sensibles como el cultivo o los métodos moleculares. Los signos clínicos son flujo verdoso, maloliente, irritación vulvar y la colpitis macularis (patognomónico). Los síntomas pueden ser disuria, picazón y/o dolor abdominal. Particularmente en las embarazadas, se las asocia a complicaciones obstétricas como la ruptura prematura de membrana, parto pretérmino y bajo peso para la edad gestacional. En el laboratorio se realiza examen en fresco y tinción de Giemsa para visualizar los trofozoitos; esta técnica es de bajo costo y rápida pero requiere de una observación dentro de las 3 hs de obtenida la muestra y su sensibilidad es baja. Por otra parte, el cultivo requiere de trofozoitos viables, es laborioso y puede demorar una semana para obtener resultados. El objetivo del trabajo es conocer la prevalencia de Trichomonas vaginalis en mujeres embarazas y evaluar una técnica molecular respecto a la microscopía.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo y transversal. Se trabajó con muestras endo y exocervicales provenientes de mujeres embarazadas HIV negativas que concurrieron a controles obstétricos durante los años 2015 y 2016. Se registró la edad, presencia de síntomas y semanas de embarazo. Se realizó observación en fresco y coloración de Giemsa para la observación del parásito y de la reacción inflamatoria. Se extrajo el ADN de las muestras mediante un kit comercial automatizado de Abbott y luego se hizo una PCR convencional utilizando los cebadores TVC11 y TVC12 (Muresu 1991). Aquellas muestras positivas fueron confirmadas en una nueva largada utilizando los mismos cebadores.

Resultados: Se estudiaron 207 muestras, edad promedio de 25,8 años (rango 14-41) y 22,5 semanas de embarazo (rango 8-38 sem). La prevalencia obtenida por PCR fue 8,2% (17/207) versus 3,4% con el examen en fresco (7/207). La prevalencia en el grupo de asintomáticas fue de 6,6% (9/136) y en el grupo de

sintomáticas de 11,3% (8/71). De las 17 muestras positivas sólo 8 (47%) presentaron reacción inflamatoria. No se halló ninguna muestra con fresco positivo y PCR negativa. No se halló ninguna muestra con fresco positivo y PCR negativa. 5 pacientes presentaron coinfecciones: 1/17 con Chlamydia trachomatis, 1/17 con Chlamydia trachomatis y Mycoplasma genitalium, 1/17 con Neisseria gonorrhoea, 2/17 presentaban condilomas. Ninguna de ellas refirió tener síntomas.

Conclusiones: La incorporación de la PCR en la búsqueda de Trichomonas vaginalis aumenta 2.4 veces la cantidad de muestras positivas respecto a la observación en fresco. Considerando las complicaciones obstétricas que este microorganismo podría causar y el alto porcentaje de mujeres asintomáticas y sin reacción inflamatoria, sugerimos un screening a la población de embarazadas en nuestro hospital.

MI 252

0268 - INCORPORACION DEL PANEL MENINGITIS/ENCEFALITIS DE FILMARRAY® BIOFIRE EN EL ESTUDIO DE INFECCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN UN HOSPITAL PEDIATRICO

TREVIÑO, Natalia | ANDERSEN, Sofia Itati | EGUIGUREN, Paula | MAYDANA, Mara | VESCINA, Cecilia | GIL, Florencia | SOSA, Fernanda | VINUESA, Marta | MORALES, Juan Carlos | ODERIZ, Sebastian

HIAEP SOR MARIA LUDOVICA, LA PLATA

Introducción y Objetivos: Evaluar el impacto de la incorporación del Panel Meningitis/Encefalitis de FilmArray® Biofire (FA) en el estudio de líquidos cefalorraquídeos (LCR) de pacientes pediátricos con sospecha de infección del sistema nervioso central (SNC).

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo y descriptivo entre la Sala de Microbiologia del Laboratorio Central y el Servicio de Infectología del HIAEP Sor María Ludovica durante el período abril 2017-mayo 2018. Se analizaron muestras de LCR de pacientes pediátricos (1 día -14 años) internados con sospecha de infección del SNC y solicitud de FA, el cual detecta *Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, Citomegalovirus (CMV), Enterovirus (EV), Virus herpes simple 1 (VHS-1), Virus herpes simple 2 (VHS-2), Herpes virus humano 6 (HHV-6), Parechovirus humano, Virus varicela-zóster (VVZ) y *Cryptococcus neoformans/gattii*.. Se consideró un LCR como positivo cuando al menos un microorganismo fue detectado por FA. Se analizaron las historias clínicas de todos los pacientes y los citofisicoquímicos (CFQ) de los LCR.

Resultados: Se evaluaron 127 muestras de LCR (1 por paciente). En pacientes menores de 1 año el principal diagnostico de ingreso fue síndrome febril sin foco (24/53) y en los mayores, meningoencefalitis (28/74), siendo ambos diagnósticos los que presentaron mayor número de LCR positivos (16/26 y 26/47 respectivamente). 56/127 (44%) LCR fueron positivos por FA: 84% (47/56) agentes virales (59% EV, 14% HHV-6, 3% VVZ, 2% VHS-2, y coinfecciones entre EV y VHS-6 3%, y VHS-1 y VHS-6 2%) y 16% (9/56) agentes bacterianos (14% *N. meningitidis* y 2% *S. pneumoniae*). El grado de acuerdo entre los CFQ y los resultados de FA fue moderado: de 55 LCR con CFQ patológico, 37 fueron positivos por FA (67%), y de 56 con CFQ normal, 13 fueron positivos por FA (23%): 5/13 HHV-6, 6/13 EV, 1/13 *S. pneumoniae* y 1/13 VVZ. El 90% de los pacientes estudiados, recibieron antimicrobianos (antibióticos y/o antivirales) previo al resultado del FA. En el 67% se adecuó el tratamiento antimicrobiano basándose en el resultado de FA.

Conclusiones: La incorporación del Panel Meningitis/Encefalitis de FilmArray® Biofire en el estudio de LCR, permitió conocer en un corto periodo de tiempo (<12 hs) los agentes causales de las infecciones del SNC adecuando el tratamiento correspondiente a partir del resultado obtenido y haciendo uso racional de antimicrobianos. Continua siendo necesaria la intervención desde la Sala de Microbiología y el Servicio de Infectología para difundir los beneficios del FA como técnica diagnostica rápida que permite en tiempos viables, un correcto manejo del paciente con infección del SNC.

MI 253

0303 - ANÁLISIS FENOTÍPICO DE LOS SISTEMAS DE DOS COMPONENTES, PRESENTES EN EL SIMBIONTE DE ALFALFA *ENSIFER MELILOTI*, QUE PARTICIPAN EN LA RESPUESTA BACTERIANA AL ESTRÉS TÉRMICO

VERA, Leda Mailen | VACCA, Carolina | MOGRO, Ezequiel Gerardo | CAFIERO, Juan Hilario | DRAGHI, Walter | DEL PAPA, María Florencia

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: Los rizobios son microorganismos mesófilos que como tales poseen una temperatura óptima de crecimiento en el rango de los 25-30°C. Sin embargo, en el ambiente frecuentemente

se hayan expuestos a temperaturas fuera de este rango, principalmente cuando consideramos el aumento de la temperatura edáfica por efecto del cambio climático global, o la ampliación de la frontera agropecuaria, aumentando la superficie cultivada de alfalfa en regiones agroclimáticas no favorables. Ambos factores pueden afectar la viabilidad y persistencia de los rizobios en el suelo, como así también las diversas etapas de la asociación simbiótica, disminuyendo los beneficios que la fijación biológica de nitrógeno (FBN) aporta a la nutrición del cultivo de alfalfa. Uno de los mecanismos que comúnmente utilizan las bacterias para adaptarse a las fluctuaciones del ambiente son los sistemas de dos componentes (TCS). Estos sistemas involucran una proteína histidina quinasa (HK) responsable de sensar el cambio en el ambiente, y una proteína reguladora de respuesta (RR), que generalmente actúa como regulador transcripcional modificando la expresión de genes que generen una respuesta celular rápida para adaptarse a las nuevas condiciones ambientales. En este contexto, y con el objeto de dilucidar los mecanismos moleculares que determinan la tolerancia a las altas temperaturas, nos propusimos evaluar el rol de los TCS presentes en *E. meliloti* en la respuesta al estrés térmico.

Materiales y Métodos: Sobre una biblioteca de 37 mutantes isogénicos en RR se analizaron parámetros cinéticos de crecimiento poblacional en medio rico (TY) y mínimo (SG) a temperatura óptima (28°C) y alta (40°C). En paralelo, se evaluó la capacidad de nodulación, habilidad competitiva y FBN en plantas de alfalfa en condiciones de crecimiento controladas.

Resultados: El análisis de las curvas de crecimiento reveló que la ausencia de 6 RR produce una disminución significativa en la velocidad de crecimiento, sugiriendo que estos factores de transcripción podrían participar en las respuestas moleculares desencadenadas por la temperatura elevada. Los resultados obtenidos en plantas mostraron que las cinéticas de nodulación de los mutantes no presentaron diferencias significativas con las de la cepa salvaje. Sin embargo, se observó que el mutante *SMb20934-* generó mayor masa seca aérea y resultó más competitivo por la ocupación del nódulo que la cepa salvaje.

Conclusiones: En la actualidad estamos concentrados en definir los mecanismos moleculares que conducen a la activación transcripcional de *SMb20934* y en identificar sus genes blanco.

MI 254

0312 - IDENTIFICACION DE MUTACIONES PUNTUALES OCURRIDAS LUEGO DEL PROCESO DE ATENUACIÓN DE UNA CEPA DE INTERÉS PECUARIO DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS*

NAGEL, Ariel [1] | AMADIO, Ariel Fernando[2] | CAIMI, Karina[1]

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO). INTA-CONICET. [1]; ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA, INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) [2]

Introducción y Objetivos: Leptospira interrogans es el principal agente causal de la leptospirosis, una zoonosis distribuida mundialmente debido a que se contrae a través del agua contaminada con orina de animales infectados. En Argentina, el serogrupo más frecuente en bovinos es Pomona produciendo una infección severa que puede causar mortalidad en terneros. Previamente, nuestro grupo caracterizó mediante marcadores moleculares una cepa perteneciente a este serogrupo denominada AKRFB que forma parte de una formulación vacunal para bovinos y porcinos y de la cual se obtuvo el genoma completo (Varni et al, 2016). Estos resultados son de suma importancia epidemiológica, pero no permiten explicar los atributos patogénicos y de virulencia de este clon. El objetivo de este trabajo fue entonces, estudiar e identificar las bases moleculares de la cepa AKRFB mediante un análisis genómico comparativo que puedan afectar a la bacteria.

Materiales y Métodos: Para llevar a cabo este estudio, se logró la atenuación de la cepa AKRFB Pasaje 1 (P1) mediante subcultivos en medio líquido obteniéndose su contraparte atenuada en el Pasaje 19 (P19). La atenuación se confirmó inoculando hámsters que es el modelo de enfermedad aguda (Nagel et al, 2019). Posteriormente, se extrajo ADN del cultivo de la variante P19 mediante un método casero. Se construyeron las bibliotecas genómicas utilizando el kit Nextera XT con extremos pareados. La secuenciación se realizó en el equipo Illumina MiSeq. Luego de filtrar las lecturas crudas se analizaron las características generales y se visualizaron cambios estructurales mediante GenoPlotR comparando contra P1 y un genoma de referencia para L. interrogans (serovar Lai cepa 56601). Por otro lado, se evaluaron polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs) entre P1 y P19 con el software BreSeq seleccionando solamente aquellas que produjeron cambios no sinónimos en regiones codificantes.

Resultados: Las características generales que presentó el genoma de P19 fueron: tamaño del genoma de 4.767.933 pb, porcentaje de GC de 35%, 3816 secuencias codificantes (CDS), 34 ARNs de transferencia y 3851 genes. A nivel estructural no se produjeron grandes reordenamientos entre P1 y P19, sólo se identificó una región ausente en la cepa de referencia que codifica para el antígeno O que se encuentra presente en P1 y P19. Mediante el análisis de SNPs se obtuvieron 91 mutaciones totales que fueron filtradas quedándonos sólo las que produjeron un cambio de aminoácido no sinónimo en regiones codificantes. Esto dió una lista final de 10 SNPs (4 caracterizados y 6 no caracterizados) ubicados en genes que codifican para proteínas directamente implicadas en la virulencia de Leptospira como lolA, katE, ompL1 y ligB.

Conclusiones: Estos resultados nos permiten confirmar que la atenuación de esta bacteria produce cambios puntuales en su genoma afectando diferentes funciones relacionadas con la virulencia. Adicionalmente, se presentan genes hasta el momento no caracterizados que pueden ser de importancia en la virulencia de Leptospira spp.

MI 255

0344 - VARIABILIDAD EN EL GENOMA ACCESORIO DE *ACINETOBACTER BAUMANNII*: IMPACTO EN LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y VIRULENCIA EN CEPAS CLÍNICAS FILOGENÉTICAMENTE RELACIONADAS

PAGANINI, Julian[1] | **CAMERANESI, María Marcela** [2] | LIMANSKY, Adriana[2] | VIALE, Alejandro Miguel[2] | REPIZO, Guillermo Daniel[2]

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO [1]; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) [2]

Introducción y Objetivos: *Acinetobacter baumannii* (Aba) multi-resistente (MR) a antimicrobianos es un microrganismo de prioridad crítica dada la creciente incidencia de un número limitado de complejos clonales (CC) MR en infecciones nosocomiales. Las metodologías últimas de secuenciación han permitido el análisis comparativo de genomas de aislamientos bacterianos relacionados permitiendo identificar sus relaciones filogenéticas y cambios adaptativos. Nosotros comparamos aquí los genomas de 3 cepas clínicas MR locales de Aba epidemiológicamente relacionadas con énfasis en su genoma accesorio a fin de dilucidar cambios genéticos involucrados en la adaptación al ambiente hospitalario.

Materiales y Métodos: Los genomas de las cepas Ab244 (sensible a carbapenemes, carbS), y Ab242 y Ab825 (resistentes a carbapenemes, carbR) fueron secuenciadas mediante pirosecuenciación 454 e Illumina. Los cromosomas respectivos fueron ordenados según la cepa Aba ATCC17978 empleando Mauve, y la anotación se realizó empleando Rast. Las cepas fueron asignadas a secuenciotipos (ST) según PubMLST. Elementos genéticos móviles (EGM) como plásmidos, islas genómicas (IG) y secuencias de inserción (IS) fueron detectados utilizando IslandViewer/ISFinder; y factores de virulencia mediante la Virulence Factor DataBase. La virulencia se evaluó usando el modelo del insecto *Galleria mellonella*.

Resultados: Las 3 cepas fueron asignadas al CC15 (Pasteur) o CC104 (Oxford). El análisis comparativo de sus genomas completos reveló elevada sintenia, pero se detectaron diferencias en el genoma accesorio incluyendo plásmidos portadores de blaOXA-58 en Ab242 y Ab825 (carbR) ausentes en Ab244 (CarbS), y una IG de 40 kpb conteniendo genes de resistencia a metales pesados solo en Ab244. Asimismo se identificaron 43 IS en Ab825, 12 en Ab242 y 9 en Ab244. En Ab825, ISAba125 fue la más frecuente con 13 copias. Dos nuevas IS pertenecientes a las familias IS256 e ISL3 fueron identificadas en las 3 cepas siendo designadas ISAba42 e ISAba43, respectivamente. In silico, identificamos genes de virulencia y persistencia en todas estas cepas, si bien Ab825 mostró una mayor capacidad infectiva en *G. mellonella* respecto a las otras. Ab825 mostró asimismo diversos genes interrumpidos por IS codificantes para proteínas de superficie celular, sugiriendo una explicación para su mayor virulencia.

Conclusiones: Proponemos aquí que una ampliación en el genoma accesorio, en particular la adquisición de IS y plásmidos, contribuyen tanto a una estrategia de ocultamiento del patógeno por la eliminación de moléculas antigénicas de superficie como a una incrementada resistencia antimicrobiana. Ello facilita una mayor persistencia y adaptabilidad a un ambiente hospitalario fluctuante.

MI 256

0872 - EL PANGENOMA DE *CAMPYLOBACTER FETUS*: SU EXPLORACIÓN CON VISTAS A LA OPTIMIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE LA CAMPILOBACTERIOSIS GENITAL BOVINA Y LA CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE LAS CEPAS ARGENTINAS

FARACE, Pablo Daniel [1] | IRAZOQUI, Matías[2] | MORSELLA, Claudia[3] | CRAVERO, Silvio[1] | TRANGONI, Marcos[1] | PAOLICCHI, Fernando[3] | AMADIO, Ariel[2] | GIOFFRÉ, Andrea[1]

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [1]; ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA, INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) [2]; DEP. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, LAB. DE BACTERIOLOGÍA, INTA EEA BALCARCE [3]

Introducción y Objetivos: *Campylobacter fetus* es un patógeno que produce trastornos intestinales e infecciones sistémicas severas en humanos. En animales, está asociado a infertilidad y abortos en vacunos, enfermedad conocida como Campilobacteriosis Genital Bovina (CGB). Se han identificado tres subespecies de *C. fetus: C. fetus fetus* (Cff), *C. fetus venerealis* (Cfv) incluyendo su biovar *C. fetus venerealis* biovar intermedius y *C. fetus testudinum* (Cft). Cff, Cfv y Cfvi se asocian a mamíferos mientras que Cft se asocia a reptiles. Gracias a los avances en los métodos de NGS (Next Generation Sequencing), en la actualidad

se cuenta con valiosa información para lograr un conocimiento pormenorizado de los distintos patógenos. El Pangenoma puede dividirse para su estudio en Core-genoma (común a todas las cepas analizadas) y genoma accesorio, con múltiples aplicaciones. En este trabajo nos proponemos a partir del estudio del pangenoma, proporcionar un marco genómico comparativo y filogenético con el fin de caracterizar tanto las potenciales secuencias conservadas en la especie como también las posibles secuencias diferenciales entre las subespecies, estudiar las relaciones filogenéticas entre las distintas cepas de nuestro país e identificar nuevas regiones target para optimizar el diagnóstico de la CGB.

Materiales y Métodos: Para el análisis se emplearon 66 secuencias genómicas disponibles en el NCBI y 165 secuencias disponibles en el EMBL-EBI. Adicionalmente, se secuenciaron 3 genomas de distintos aislamientos de campo locales de C. fetus mediante NGS, los cuales fueron dos C. fetus fetus y una *C. fetus venerealis* bv. intermedius. Los genomas fueron anotados con Prokka, y las anotaciones en formato GFF3 fueron utilizados como input para obtener el pangenoma de C. fetus (https://sanger-pathogens.github.io/Roary). Se creó un alineamiento multifasta del core-genoma utilizando PRANK. RaxML v8.2.11 se utilizó con el parámetro GTRGAMMA para calcular un árbol de consenso con 1000 réplicas de bootstrap). Los resultados fueron visualizados con Phandango (http://jameshadfield.github.io/phandango) y, posteriormente se elaboró un heatmap para comparar de a pares a todas las cepas en cuestión utilizando la herramienta ggplot de RStudio.

Resultados: Se obtuvo un filograma construido en base al core-genoma, el mismo no sostiene la separación en subespecies en *C. fetus* tal cual sugieren estudios previos y que las cepas argentinas están muy relacionadas filogenéticamente entre sí y con las cepas que circulan en el resto del mundo. El core-genoma de *C. fetus* esta constituido por 629 genes y el genoma accesorio por 4859 genes. El heatmap elaborado evidenció claramente la cercanía entre las subespecies Cff y Cfv, siendo significativas las diferencias entre estas y Cft, propia de reptiles.

Conclusiones: Este estudio a partir de las secuencias de genomas completos y la disección del Pangenoma nos permitió incrementar el conocimiento bioinformático y filogenético de *C. fetus* tanto local como global y, orientará en el diseño de herramientas útiles para la identificación y diagnostico del patógeno en Argentina y el mundo.

MI 257

0357 - ESTUDIO DE EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS INTRACELULARES DE *APIOTRICHUM LOUBIERI* M12 EN PRESENCIA DE CU(II)

BONILLA, José Oscar [1] | CALLEGARI, Eduardo Alberto[2] | PAEZ, María Daniela[2] | GIL, Raúl Andrés[1] | VILLEGAS, Liliana Beatriz[1]

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. [1]; DIVISION OF BASIC BIOMEDICAL SCIENCES, SANFORD SCHOOL OF MEDICINE. UNIVERSITY OF SOUTH DAKOTA. [2]

Introducción y Objetivos: *Apiotrichum loubieri* M12, un microorganismo resistente a Cu(II), fue aislado a partir de sedimentos de un ambiente afectado por Drenaje Ácido de Mina en la provincia de San Luis. En estudios previos, este microorganismo fue capaz de remover alrededor del 35% de Cu(II) cuando creció en medio líquido con 40 µg mL^{-1} Cu(II) después de 48h de incubación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la expresión diferencial de proteínas intracelulares de *A. loubieri* M12 en presencia y en ausencia de Cu(II), con el fin de entender los mecanismos homeostáticos de resistencia empleados por este microorganismo.

Materiales y Métodos: *A. loubieri* M12 se cultivó en medio EG* (g L^{-1}: glucosa 10,0; extracto de levadura 1,0; K_2HPO_4 0,5; KH_2PO_4 0,5), suplementado o no con 40 µg mL^{-1} Cu(II), durante 48h a 30°C y 200rpm. Las células se recuperaron por centrifugaron a 4.000 *xg* durante 20min a 4°C (Centrífuga U-320R). Los pellets celulares se lavaron dos veces con PBS (mM: NaCl 124; NaH_2PO_4 10; KH_2PO_4 3) y se conservaron durante 24h a -20°C. Luego, se procedió a la ruptura mecánica de los mismos en mortero, utilizando N_2 líquido. El polvo obtenido se recuperó con 5mL de Buffer Tris-Sacarosa y se centrifugó a 8.500 *xg*durante 20min a 4°C para eliminar los restos celulares. Los sobrenadantes se utilizaron como fuente de proteínas citosólicas y se conservaron a -20°C. La concentración de proteínas se determinó con el método de Bradford y se liofilizó un volumen correspondiente a 300 µg de proteínas. Las muestras fueron reconstituidas en Buffer Tris-HCl 50mM (pH=8) a 1 µg $µL^{-1}$. Las proteínas fueron reducidas y alquiladas usando DTT y Iodoacetamida, respectivamente, y digeridas con Tripsina (Promega). El análisis se llevó a cabo a través de nanoUHPLC-ESI-MS/MS y herramientas bioinformáticas, utilizando bases de datos de Swiss-Prot y MASCOT v2.5.1. El estudio comparativo se llevó a cabo por medio de ProteoIQ v2.8. Se trabajó con triplicados biológicos y duplicados analíticos de cada uno de ellos.

Resultados: Las proteínas que fueron inducidas o sobre-expresadas en presencia de Cu(II) corresponden a proteínas relacionadas a: i) biosíntesis de proteínas, como proteínas ribosomales, factores de iniciación y elongación de la traducción, proteínas de splicing de ARNm y proteínas de plegamiento; ii) degradación de proteínas defectuosas, como proteasas, y proteínas de proteosoma y ubiquitinación; iii) procesos de óxido-reducción; iv) proteínas de unión a ácidos nucleicos; v) proteínas de estrés, como proteínas de choque térmico,

y vi) quinasas/fosfatasas que pueden ser claves en la activación o inactivación de vías de señalización intracelulares.

Conclusiones: Estos resultados indican que la presencia del metal en el medio de cultivo afecta la expresión de proteínas celulares y fundamentalmente estimula la producción de proteínas que le permiten al microorganismo hacer frente al estrés causado por este compuesto tóxico.

MI 258

0379 - EVALUACIÓN DE LA VARIACIÓN EN LA EXPRESIÓN DE FACTORES DE VIRULENCIA IMPLICADOS EN LA PATOGENICIDAD DE *YERSINIA ENTEROCOLITICA* TRATADAS CON NANOPARTICULAS DE PLATA

TORANZO, Araceli [1] | PAEZ, Paulina[2] | LUCERO ESTRADA, Cecilia[3]

IMIBIO - CONICET [1]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FAMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET [2]; ÁREA DE MICROBIOLOGÍA. FQBYF. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS. / IMIBIO - CONICET [3]

Introducción y Objetivos: *Yersinia enterocolitica* está ampliamente distribuida en el medio ambiente y en las poblaciones animales, lo que representa una fuente potencial de infección para los humanos. El principal reservorio de cepas patógenas para humanos es el cerdo. De entre los 6 biotipos conocidos, las cepas que pertenecen a los biotipos 1B y 2 a 5 son patógenas para animales y humanos. A pesar de no poseer los marcadores de virulencia tradicionales, cepas del biotipo 1A han sido aisladas como único agente causal de infecciones gastrotintestinales. La patogenicidad de *Y. enterocolitica* depende de la presencia de varios factores de virulencia que facilitan que las bacterias ingresen a un organismo susceptible, lo colonicen, evadan el sistema inmunológico y crezcan en condiciones desfavorables. Previamente, observamos que nanopartículas de plata (NPsAg) fitosintetizadas con extracto acuoso de *Bothriochloa laguroides* tuvieron actividad antibacteriana y antibiofilm contra cepas de *Y. enterocolitica*. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar si existe variación en la expresión de genes de virulencia.

Materiales y Métodos: . Se utilizaron dos cepas de diferentes bio/serotipos: *Y. enterocolitica* 1B/O:8 (8081) e *Y. enterocolitica* 1A/O:5 (ME110). Los genes analizados para la cepa 8081 fueron *virF* ,*ail* ,*inv* , *yenI* e *yst*, mientras que para la cepa ME110 fueron *yenI* e *yst* debido a que los demás genes no se encuentran en esta cepa.Las cepas se hicieron crecer en caldo tripticasa soja adicionado con 0,25% de glucosa (CTSG) por 24 h a 25 °C con una dilución 1/256 de NPsAg, luego se procedió a realizar la extracción de ARN con Trizol. Se extrajo el ARN tanto de células planctónicas como sésiles. El ARN fue cuantificado a 260/280 nm. La síntesis de ADNc se llevó a cabo con 200 U/µl de la enzima retrotranscriptasa M-MLV.Para realizar la cuantificación relativa, la expresión de los genes fue normalizada con el gen constitutivo 16S ARNr usando el software ImageJ 1.5.

Resultados: Con la cepa 8081 se observó una disminución en la expresión del gen *inv* (que codifica para la proteína invasina, la cual promueve la adhesión) en células sésiles tratadas con NPsAg. Con la cepa ME110 no se observó variación en la expresión de los genes estudiados luego del tratamiento.

Conclusiones: La disminución de la capacidad de formar biofilms de la cepa 8081 luego del tratamiento con NPsAg podría deberse a una disminución en la expresión de invasina, con la consiguiente disminución en la adhesión de las células.

MI 259

0385 - ROL DEL REGULADOR DEL FLAGELO SUBPOLAR FLBD EN EL CONTROL DE LA SÍNTESIS DE LOS FLAGELOS LATERALES Y LA PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACARIDOS (EPS) EN *BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS*

DARDIS, Carolina | MENGUCCI, Florencia | ALTHABEGOITI, María Julia | LODEIRO, Anibal | QUELAS, Juan Ignacio | **MONGIARDINI, Elias**

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: *B. diazoefficiens* es una bacteria de relevancia agronómica dada su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en simbiosis con soja. En vida libre, es capaz de sintetizar dos sistemas de flagelos independientes, que utiliza para nadar en medios líquidos. Uno de los sistemas presenta localización subpolar y expresión constitutiva mientras que el otro sistema es lateral y funciona de manera inducible. Ambos aportan al movimiento de natación y su uso es importante en la competitividad para nodular plantas de soja. Los flagelos son estructuras complejas compuestas por 40-50 proteínas, que se ensamblan en las membranas de la bacteria. Este proceso requiere de una regulación estricta debido al alto costo energético que conlleva su síntesis y mantenimiento. Esta regulación generalmente ocurre en una cascada jerárquica y puede implicar 3 o

4 etapas. En cada etapa pueden estar involucrados uno o dos reguladores transcripcionales o post-transcripcionales, que controlan la expresión temporal de las proteínas necesarias. En nuestro laboratorio hemos caracterizado la cascada regulatoria de la síntesis del flagelo subpolar de *B. diazoefficiens* USDA110. Mediante mutagénesis sitio-dirigida en uno de los reguladores de clase II (FlbD) y ensayos de RT-qPCR, pudimos determinar que FlbD está involucrado en el control de la transcripción de los genes que codifican los componentes de la parte media de la estructura del flagelo (bastón distal y gancho). Sin embargo, este mutante presentó otros fenotipos que no están relacionados de manera directa al control de la síntesis del flagelo y que se presentan en este trabajo.

Materiales y Métodos: La cepa "Delta"FlbD se obtuvo en un trabajo previo (Dardis, 2019). La purificación de flagelinas de sobrenadante de cultivo se realizó por precipitación con polietilenglicol. El aislamiento de ARN mensajero y su cuantificación por qPCR se realizó por métodos estándares de biología molecular. La determinación de *biofilm* en tubo de vidrio se realizó según Dardis (2019). Para la cuantificación de EPS se utilizó el método de Antrona.

Resultados: Además de controlar ciertos genes del sistema del flagelo subpolar, se observó que la cepa "Delta"FlbD presentó: -mayor expresión del sistema del flagelo lateral, evidenciado por la cantidad de flagelinas recuperadas de sobrenadantes de cultivo. -mayor número de copias del ARNm que codifica el regulador maestro del sistema de flagelos laterales *lafR*. -colonias más mucosas y mayor producción de exopolisacáridos (EPS). -retraso en la cinética de adhesión a tubos de vidrio, como medida de la capacidad de formar *biofilm*.

Conclusiones: Es posible que el regulador de clase II del flagelo subpolar, FlbD, se encuentre también involucrado en la coordinación de la síntesis entre ambos sistemas flagelares y, al mismo tiempo, actúe como nexo en la señalización de la transición entre el estado planctónico (móvil) y el estado de *biofilm*. Bibliografía: Dardis C., Tesis doctoral, UNLP (2019).

MI 260

0577 - APLICACIÓN DE CRISPRI PARA EL SILENCIAMIENTO GÉNICO DE LA PROTEASA LONB EN *HALOFERAX VOLCANII*

FERRARI, María Celeste [1] | SCHWARZ, Thandi[2] | MARCHFELDER, Anita[2] | DE CASTRO, Rosana[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB CONICET UNMDP, FCEYN [1]; DEPARTMENT OF BIOLOGY II, ULM UNIVERSITY, 89069 ULM [2]

Introducción y Objetivos: La proteasa ATP-dependiente Lon está conservada en los tres dominios de la vida y ha sido ampliamente estudiada en bacterias y eucariotas (LonA, enzima soluble). En las arqueas, Lon se encuentra asociada a la membrana citoplasmática (LonB) y es esencial para la viabilidad de *H. volcanii*. Para regular la expresión de LonB y estudiar su función, se generó una mutante condicional (HVLON3) en *H. volcanii* insertando por recombinación homóloga el promotor regulable por Trp (pTna) río arriba del gen *lonb*. La depleción de LonB afectó la forma celular, el crecimiento y la acumulación de pigmentos carotenoides (bacterioruberinas). La mutante HVLON3 no es compatible con la expresión de proteínas recombinantes sintetizadas bajo el promotor pTna, por lo cual no fue posible validar experimentalmente sustratos candidatos de LonB en esta cepa. El sistema CRISPR-Cas constituye el sistema inmune adaptativo de aproximadamente el 50% de las bacterias y el 90% de las arqueas. *H. volcanii* posee el sistema CRISPR-Cas tipo I-E caracterizado por la presencia del complejo de proteínas Cas (Cascada) que se une vía el ARN regulador (crRNA) al ADN blanco, el cual es posteriormente degradado por la nucleasa Cas3. Este sistema fue adaptado eficazmente para regular la expresión génica en *H. volcanii* (CRISPRi) generando la cepa HV30 (delta*cas3*). En el sistema CRISPRi, el crRNA se une al promotor (P) o al sitio de inicio de la transcripción (SIT) del gen blanco junto con el complejo Cascada bloqueando la unión de la ARN polimerasa y/o factores de transcripción. El objetivo de este trabajo fue aplicar la tecnología CRISPRi para silenciar la expresión de *lonb* en *H. volcanii*.

Materiales y Métodos: Se generaron mediante PCR inversa construcciones codificantes de tres crRNAs que hibridaban en el P o en el SIT de lonB y se introdujeron separadamente en la cepa HV30. Para validar el nivel de silenciamiento de lonB, se extrajo RNA total de cada una de las cepas en fase exponencial y estacionaria, y se analizó por Northern blotting. La concentración de bacterioruberinas (Bctr) se determinó por espectrofotometría, Abs 496 nm (máximo de absorción).

Resultados: Las cepas CRISPRi-LonB mostraron diferencias en los niveles de represión de la expresión de LonB dependiendo del sitio de unión del crRNA (P o SIT). La cepa CRISPRi-LonB1 (crRNA anti#lonB1) hibridando en la región promotora de *lonb* reprimió eficazmente (67% aprox.) la expresión de LonB en *H. volcanii* HV30 en ambas fases de crecimiento. Al mismo tiempo presentó menor velocidad de crecimiento (μ 0.0055 vs 0.01139 h-1) e hiperpigmentación (2.55 ± 1.3 vs 0.34 ± 0.2 Bctr mg/g célula) que la cepa control (HV30+ pTA232), en coincidencia con el fenotipo reportado para la mutante condicional HVLON3.

Conclusiones: La aplicación de CRISPRi permitió reprimir eficazmente el gen esencial *lonb* en *H. volcanii*. La cepa CRISPRi-LonB1 obtenida mediante esta técnica produce bajos niveles de la proteasa LonB y su acervo genético es compatible con la expresión de proteínas recombinantes bajo el control del promotor pTna

regulable por Trp en *H. volcanii*. Financiado por ANPCyT, UNMDP y Boehringer Ingelheim Fonds travel grant (2018).

MI 261

0289 - VOCS PRODUCIDOS POR *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* GB03 CONTRARESTAN LOS EFECTOS DEL ESTRÉS SALINO EN *MENTHA PIPERITA* PRINCIPALMENTE A TRAVÉS DE LA EMISIÓN DE ACETOÍNA

CAPPELLARI, Lorena | CHIAPPERO, Julieta | PALERMO, Tamara | BANCHIO, Erika

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO-DPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR- FCEFQYN

Introducción y Objetivos: *M. piperita* es una planta aromática cultivada para su uso por las industrias cosmética, alimenticia y farmacéutica. La salinidad, la acumulación de sales en la superficie del suelo o cerca de ella, es una de las principales causas que limita la producción de los cultivos, lo cual resulta un problema de interés agronómico. Las PGPB (del inglés Plant Growth Promoting Bacteria) son bacterias benéficas del suelo que juegan un rol significativo en promover el crecimiento vegetal. Estos microorganismos pueden producir su efecto a través de la emisión de VOCs (del inglés Volatile Organic Compounds). El objetivo de este trabajo fue evaluar si los VOCs producidos por *B. amyloliquefaciens* GB03 y el principal compuesto emitido, acetoína, contrarrestan el efecto del estrés salino en *M. piperita*.

Materiales y Métodos: Estacas uninodales de *M. piperita* fueron crecidas in vitro en frascos conteniendo medio Murashige and Skoog suplementado con 0, 75 ó 100 mM de ClNa y expuestas a los VOCs de *B. amyloliquefaciens* GB03. El microorganismo fue inoculado en un vial conteniendo medio Hoagland suplementado con sacarosa al 3% y la concentración de ClNa correspondiente. El vial fue depositado en el interior del frasco. Después de 30 días se evaluaron diferentes parámetros de crecimiento vegetal y el contenido de clorofila. El nivel endógeno de las fitohormonas JA, SA y ABA fue determinado por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa (LC-MS/MS). Los VOCs emitidos por el microorganismo, bajo las diferentes condiciones de crecimiento, fueron analizados por cromatografía gaseosa (GC), empleando fibras SPME. En los ensayos con acetoína en el vial en lugar del microorganismo se inoculó 3-hydroxy-2-butanone (acetoína).

Resultados: La exposición a ClNa produjo una importante disminución del crecimiento vegetal. Sin embargo, las plantas crecidas bajo estrés salino y expuestas a los VOCs de GB03 presentaron mejores características morfológicas y un contenido superior de clorofila, en comparación a los controles correspondientes. Los niveles endógenos de SA y ABA fueron significativamente superiores en plantas crecidas bajo estrés salino; sin embargo los correspondientes a ABA decrecieron en forma considerable en plantas expuestas a los VOCs de GB03. El análisis cromatográfico de los VOCs reveló que el % relativo de acetoína fue significativamente mayor cuando el microorganismo creció bajo condiciones de estrés salino. La exposición a acetoína tuvo los mismos efectos que los VOCs emitidos por GB03 sobre el crecimiento vegetal. El peso fresco de plantas crecidas en presencia ClNa 75 mM y expuestas a VOCs de GB03 o a acetoína fue un 50 % superior que el de los controles correspondientes.

Conclusiones: Los resultados del presente estudio sugieren que los VOCs de GB03 contrarrestan el efecto negativo de la sal sobre el crecimiento vegetal. La acetoína fue el principal compuesto emitido y su efecto sobre el crecimiento vegetal fue similar que el de la mezcla de VOCs emitida por el microorganismo.

Presentaciones orales SAMIGE 2

Biorremediación y Biocontrol, Fisiología Microbiana, Microbiología Molecular.

Jueves 26 de septiembre
15:00 – 16:30 h
Sala E

SAMIGE - Biorremediación y Biocontrol

Oral SAMIGE JU 1

0151 - COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES BACTERIANOS COMO HERRAMIENTA PARA EL CONTROL DE *FUSARIUM VERTICILLIOIDES*

GERGOLET DIAZ, Donald Gabriel[1] | MERLO, Carolina[2] | VÁZQUEZ, Carolina[1] | USSEGLIO, Virginia[2] | PIZZOLITTO, Romina[2] | **BROUARD URIBURU, Maria Del Rosario** [1] | MADARIAGA, Lucas[1] | LUCINI, Enrique[1] | ZYGADLO, Julio[2]

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. CÓRDOBA. ARGENTINA. [1]; INSTITUTO MULTIDISCIPLINARIO DE BIOLOGÍA VEGETAL (IMBIV-CONICET). CÓRDOBA. ARGENTINA. [2]

Introducción y Objetivos: *Fusarium verticillioides* es uno de los hongos patógenos más frecuentemente asociado al deterioro de silos de maíz y uno de los mayores productores de fumonisinas. Actualmente existe una creciente demanda en disminuir el uso de fungicidas sintéticos y remplazarlos por compuestos más amigables con el ambiente y la salud de los consumidores. En este sentido, los compuestos orgánicos volátiles (COVs) producidos por bacterias son potenciales agentes de biocontrol. El objetivo fue evaluar el efecto de los COVs producidos por bacterias ácido lácticas aisladas de silo bolsa de maíz sobre el crecimiento de *Fusarium verticillioides* M3125 y la producción de la micotoxina fumonisina B_1 (FB_1).

Materiales y Métodos: Se aislaron bacterias ácido lácticas en medio selectivo MRS (De Man, Rogosa and Sharpe media) a partir de muestras de granos de maíz de silo bolsa, de las cuales se identificaron 4 cepas mediante el secuenciamiento del gen 16S ARNr. Para evaluar el efecto de los COVs sobre el hongo se enfrentaron placas sembradas con conidios de hongos vs. placas sembradas con bacterias con 72 h de incubación (n=10), se sellaron, se incubaron a 30 °C, y se midió el diámetro del micelio durante 7 días. La concentración de FB_1 se determinó a los 28 días de incubación en un HPLC Perkin Elmer. Los COVs emitidos por las bacterias se analizaron por cromatografía de gases-espectrometría de masa (CG-EM) (Perkin Elmer 600).

Resultados: Las 4 cepas mostraron identidad con el género *Enterococcus*. La cepa 49 mostró un 98 % de identidad y la 55 un 99 % de identidad con *E. faecium*, la M4A un 99% con *E. casseliflavus*, y la cepa M4G mostró un 99 % de identidad con *E. casseliflavus* y *E. gallinarum*. Todas las cepas, excepto la M4G, inhibieron significativamente el crecimiento fúngico con respecto al control, sin embargo la cepa M4A mostro el mayor porcentaje de inhibición 54,78%. La fase lag presentó diferencias significativas con el control para los tratamientos con las cepas M4G y M4A, siendo más larga en los hongos expuestos a los COVs producidos por la cepa M4A, mientras que la producción de FB_1 disminuyó en los hongos expuestos a los volátiles de la cepa M4A. Las cepas bacterianas produjeron diferentes compuestos volátiles, siendo los de mayor proporción el ácido acético, acetoína y diacetilo. A su vez la cepa M4A produjo la más alta proporción de diacetilo y la M4G la más baja. La cepa M4G produjo la proporción más alta de ácido acético y las cepas 49 y 55 las más altas de acetoína.

Conclusiones: En conclusión, los COVs producidos por la cepa M4A presentaron actividad antagónica sobre el crecimiento del hongo y la producción de micotoxinas. Los análisis de los COVs producidos por las bacterias sugieren que el compuesto responsable de la bioactividad sería el diacetilo. El efecto antagónico de los COVs está reportado en la bibliografía, sin embargo hasta nuestro conocimiento no hay estudios sobre está interacción entre los microorganismos que están involucrados en el sistema de silos de almacenajes de granos.

Oral SAMIGE JU 2

0458 - DESARROLLO DE UN SENSOR BIOLÓGICO PARA REPORTAR CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

MENDOZA, Julián Ignacio | CHECA, Susana

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO

Introducción y Objetivos: La contaminación por metales pesados tóxicos como mercurio (Hg) es una preocupación a nivel mundial, ya que altos niveles de este metal afectan no sólo la salud humana sino también al medio ambiente. La tecnología de biosensores bacterianos (microorganismos modificados genéticamente para acoplar la detección de un metal a la producción de una señal fácilmente cuantificable) emerge como una nueva herramienta para contribuir a dar solución a esta problemática. La principal ventaja de los biosensores es que reportan exclusivamente la fracción de metal biodisponible (como iones), siendo más apropiados para evaluar su riesgo ambiental. Además, esta tecnología tiene un bajo costo de implementación y las determinaciones se realizan de manera simples y rápidas. Nuestro grupo se ha centrado en el estudio de proteínas metalorreguladoras, el componente central del biosensor y principal determinante de la especificidad de la determinación. Previamente, a partir de GolS, un sensor de Au presente en *Salmonella*, desarrollamos un biosensor de oro y otro de amplio espectro de detección de metales tóxicos. Este biosensor es capaz de reportar simultáneamente y con alta sensibilidad la presencia de Hg, Cd y Pb en muestras acuosas, tres de los metales más contaminantes según la WHO. Con el objetivo de obtener nuevas variantes de GolS capaces de reportar específicamente Hg biodisponible, y posibilitar su cuantificación, modificamos la región de unión a metal de GolS de manera programada para asimilarla a la de sensores nativos de Hg.

Materiales y Métodos: Para modificar el sensor, aplicamos mutagénesis sitio-dirigida. Utilizamos construcciones reporteras colorimétricas y fluorescentes, y distintos chasis bacterianos, para analizar la actividad transcripcional de las variantes de GolS obtenidas en presencia de distintos metales.

Resultados: Una de estas variantes mostró especificidad para detectar Hg soluble incluso en presencia de otros metales como Au, Cu, Cd, Pb o Co. La inclusión de una construcción reportera fluorescente en el biosensor posibilita detectar altos niveles de Hg a ojo desnudo iluminando la muestra con luz azul. La calibración del biosensor fluorescente en condiciones de laboratorio reveló una sensibilidad y rango de detección de Hg adecuadas, permitiendo su uso para evaluar muestras con concentraciones de Hg superiores a 6 ppb, el valor máximo tolerado de este tóxico en aguas de consumo recomendado por WHO y otras agencias de protección.

Conclusiones: El biosensor fluorescente desarrollado tiene potencial aplicación para identificar y cuantificar Hg en soluciones acuosas. Sumado a los biosensores previamente desarrollados en el laboratorio, posibilita el desarrollo de un dispositivo de detección para el rápido análisis, identificación y cuantificación de metales tóxicos en aguas de consumo o ambientales.

Oral SAMIGE JU 3

0599 - ENRIQUECIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UN CONSORCIO MICROBIANO DEMULSIFICANTE PARA EL TRATAMIENTO DE EMULSIONES DE AGUAS DE SENTINAS

CORTI MONZÓN, Georgina [1] | NISENBAUM, Melina[1] | JUNCA, Howard[2] | MURIALDO, Silvia[1]

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y AMBIENTE (INCITAA), FACULTAD INGENIERÍA, UNMDP [1]; RG MICROBIAL ECOLOGY METABOLISM, GENOMICS& EVOLUTION, MICROBIOMAS FOUNDATION [2]

Introducción y Objetivos: La descarga de aguas residuales oleosas mal tratadas al medio ambiente puede crear problemas ecológicos. La desestabilización de emulsiones aceite en agua (O/W), es un gran desafío en el tratamiento de estos residuos oleosos. El agua de sentina es un residuo peligroso generado por los barcos, que contiene elevados niveles de hidrocarburos (HC). Algunos barcos tienen un equipo separador de fases para su tratamiento a bordo, siendo poco efectivos por la elevada presencia de emulsiones de HC en agua (emulsiones O/W). Estas emulsiones se rompen generalmente por tecnologías que requieren la adición de demulsificantes químicos (a menudo tóxicos) o la limpieza/reemplazo de los filtros contaminados (técnica de filtración). Los biodemulsificantes son sustancias producidas por microorganismos que surgen así como una nueva tecnología, económica, eficiente y respetuosa con el medio ambiente. El objetivo del trabajo fue caracterizar la habilidad demulsificante de un consorcio microbiano aislado de muestras de sentinas del Puerto de Mar del Plata.

Materiales y Métodos: El consorcio microbiano fue crecido en presencia de fase oleosa de sentina como única fuente de carbono. Se analizó el crecimiento por DO600nm y conteo de células en cámara. Se estudió la habilidad demulsificante y la adhesión celular a HC (técnica MATH) a lo largo de la curva de crecimiento, la localización del demulsificante (utilizando células precipitadas o el sobrenadante del cultivo), el efecto de la concentración de cultivo y de la agitación sobre la demulsificación. La demulsificación se analizó mediante el ensayo de "la botella" modificado. Se utilizó la emulsión modelo requerida por la OMI para la homologación de los separadores comerciales O/W. Se evaluó la reducción de la coloración, grosor de capa de HC en la superficie, incremento en la transmitancia y disminución en número de gotas de HC de la emulsión. Se testeó el consorcio en emulsiones reales de aguas de sentina y se describió su composición bacteriana mediante secuenciación del gen 16S ARNr por Ilumina.

Resultados: La habilidad demulsificante se presenta en la fase exponencial de crecimiento del cultivo, donde se observó mayor adhesión celular a HC, y se encuentra asociada a las células. Las células inactivadas por autoclavado pierden su habilidad demulsificante. El estudio del efecto de la concentración de cultivo mostró que se necesitan 8.4^8 células cada 15 ml de emulsión OMI para una buena demulsificación. La demulsificación también ocurre en condiciones no estáticas, con agitación orbital o vaivén. El consorcio también fue capaz de demulsificar emulsiones de sentinas reales. La identificación bacteriana mostró una gran diversidad bacteriana (índices de Shannon: 4,62, índice de Simpson: 0,89), y a los géneros *Planktosalinus*, *Marinobacter*, *Alcanivorax* y a PYR10D3 como mayoritarios.

Conclusiones: Los resultados obtenidos son muy promisorios para profundizar y continuar con los estudios, para el ulterior aprovechamiento del consorcio en el tratamiento de emulsiones O/W en sentinas.

Oral SAMIGE JU 4

0662 - ÚNICAS EN SU CLASE: TOXICIDAD DE PROTEINAS CRY DE LA CEPA *BACILLUS WIEDMANNII* BIOVAR *THURINGIENSIS*(FCC41) CONTRA MOSQUITOS

GIL, Maria Florencia | LOPEZ, Rocio de La Paz | BATTAGLIA, Marina | BERON, Corina

INBIOTEC-CONICET / FIBA

Introducción y Objetivos: Los agentes patógenos transmitidos por mosquitos hematófagos producen diversas enfermedades tales como malaria, fiebre amarilla, dengue, chikungunya, Zika, diversas encefalitis y

filariasis, que constituyen grandes problemas en salud pública. Entre los principales mosquitos vectores de tales agentes se encuentran representantes de los géneros *Anopheles* spp., *Culex* spp. y *Aedes* spp. Algunas bacterias entomopatógenas del género *Bacillus* son ampliamente estudiadas por sus propiedades como agentes microbianos para el control de estos vectores. Estas bacterias producen inclusiones parasporales compuestas principalmente por proteínas Cry que tienen actividad insecticida cuando son ingeridas por un insecto susceptible. Este cristal es solubilizado debido al pH alcalino del intestino del insecto y clivado por proteasas intestinales. Estas toxinas así activadas se unen a receptores específicos de la membrana intestinal del intestino medio, se insertan en ella formando poros provocando la disrupción de la membrana, el desbalance iónico y la lisis de las células epiteliales, dando como resultado septicemia y muerte del insecto. En este contexto, el estudio de las toxinas Cry resulta interesante como una posible alternativa para el desarrollo de insecticidas biológicos. En trabajos previos llevados a cabo por ese grupo, se caracterizó una cepa nativa identificada como Bacillus wiedmannii biovar thuringiensis (FCC41) que exhibe mayor actividad insecticida contra algunas especies de mosquito en comparación a la cepa de referencia *B. thuringiensis* subsp. israelensis, utilizada en formulados para el biocontrol de estos dípteros. El genoma de esta cepa bacteriana fue secuenciado, detectando genes codificantes de 6 proteínas Cry diferentes que fueron identificadas como Cry4-like1, Cry4-like 2, Cry52-like1, Cry52-like2, Cry24Ca y Cry41-like. El objetivo de este trabajo fue analizar la actividad insecticida de cada una de estas toxinas nativas contra larvas de Culex quinquefasciatus.

Materiales y Métodos: . Para ello, cada proteína se clonó individualmente en un sistema de expresión específico para B. thuringiensis basado en el vector de expresión pSTAB, el cual está optimizado para la producción de toxinas Cry debido a que contiene un promotor fuerte dependiente de la esporulación en combinación con una secuencia estabilizadora del mRNA. Los plásmidos resultantes fueron introducidos en la cepa acristalífera 4Q7, derivada de *B. thuringiensis* sp. *israelensis* carente de plásmidos codificantes de secuencias de genes *cry* y por lo tanto carente de actividad mosquitocida. La actividad tóxica de cada mutante se analizó mediante bioensayos de 48 horas contra larvas de segundo estadio de Cx. quinquefasciatus.

Resultados: Todas las mutantes, a excepción de la portadora de la proteína Cry41-like, exhibieron actividad insecticida siendo la proteína Cry24Ca la de mayor actividad mosquitocida a las 24 horas después de la aplicación de una suspensión de complejo espora-cristal.

Conclusiones: Las proteínas Cry24Ca, Cry4-Like1, Cry4-Like2, Cry52-Like1, Cry52-Like2 de la cepa *Bacillus wiedmannii* biovar *thuringiensis* (FCC41) resultan de interés por su toxicidad contra larvas de Cx. quinquefasciatus y podrán ser utilizadas en el desarrollo de bioinsecticidas específicos para el control de mosquitos de interés sanitario. Este trabajo es financiado por ANPCyT (PICT-2015-0575), CONICET (PUE 2017-0101) y Universidad Nacional de Mar del Plata (15/E793 EXA840/17).

SAMIGE - Fisiología Microbiana

Oral SAMIGE JU 5

0579 - ALTERACIONES EN LA ARQUITECTURA DEL BIOFILMS DE *CANDIDA TROPICALIS*: EFECTO DE UN NUEVO COMPUESTO CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

QUINTEROS, Melisa [1] | GARCÍA MARTÍNEZ, Joaquín C.[2] | PÁEZ, Paulina L.[3] | PARAJE, María Gabriela[1]

IMBIV-CONICET. CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA [1]; FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA [2]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET [3]

Introducción y Objetivos: Se ha descripto que las infecciones por *Candida* asociadas a biofilms son clínicamente relevantes debido a la resistencia multifactorial y la tolerancia a los agentes antifúngicos. Previamente, nuestro grupo de investigación demostró que un nuevo compuesto, el oligoestirilbenceno 14 (OSB14), presentó actividad antibiofilm y efecto sinérgico asociado a anfotericina B (AmB), con una erradicación del hasta 90% sobre el biofilm de *Candida tropicalis*.El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios en la topografía y arquitectura de biofilms maduros de *C. tropicalis*producidos por la acción del compuesto OSB14 y de la asociación sinérgica con AmB.

Materiales y Métodos: La estructura del biofilm se estudió mediante microscopia óptica (MO) por tinción con cristal violeta y por microscopía confocal de exploración láser (MCEL) utilizando calcofluor-white, como colorante. El análisis de las imágenes por MCEL fue realizado utilizando el software ImageJ. La caracterización de la arquitectura y morfología del biofilms se realizó mediante el análisis con el programa COMSTAT, que permitió evaluar y comparar distintos parámetros tales como biomasa, espesor, rugosidad, distancia de difusión y relación biomasa/biovolumen.

Resultados: Por MO se observó que el biofilm formado por *C. tropicalis* NCPF 3111 presentaba blastosporas ovaladas, pseudohifas e hifas verdaderas. El análisis de las imágenes obtenidas de los biofilms tratados con el compuesto OSB14 solo y su combinación con AmB, tanto por MO como por MCEL, evidenció la reducción de la biomasa total de los biofilms, con respecto al control sin tratamiento. El análisis COMSTAT del biofilm tratado con el compuesto OSB14, arrojó una reducción de la biomasa del 90% con respecto al control y una reducción del 94% en la combinación sinérgica con AmB (*p<0,05). Los parámetros de COMSTAT arrojaron que, tanto la

combinación como el antifúngico usado como referencia (AmB), presentaron el menor valor de espesor del biofilm y de distancia de difusión. Además, el coeficiente de rugosidad del biofilm tratado con el compuesto OSB14 fue mayor al control y similar a la combinación con AmB.

Conclusiones: La información obtenida resulta relevante para comprender las modificaciones en la arquitectura y en el microentorno de biofilms de *Candida*tratados con este nuevo agente antifúngico, permitiendo profundizar distintos aspectos de su mecanismo de acción.

SAMIGE - Microbiología Molecular

Oral SAMIGE JU 6

0343 - EFECTO DE RAPD EN EL DESARROLLO DE LA MATRIZ DEL BIOFILM DE *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICIAE* 3841

TARSITANO, Julián [1] | RUSSO, Daniela[1] | ALONSO, Leonardo[2] | ZORREGUIETA, Angeles[1]

IIBBA-CONICET Y FUNDACION INSTITUTO LELOIR [1]; NANOBIOTEC Y CONICET-UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [2]

Introducción y Objetivos: *Rhizobium leguminosarum* produce un polisacárido acídico que queda en parte retenido sobre la célula como polisacárido capsular (CPS) y que mayormente se libera al medio extracelular como exopolisacárido (EPS). Las proteínas de la familia Rap, secretadas por el sistema de secreción tipo I PrsDE participan en la formación de un biofilm maduro, procesando las cadenas de polisacárido o afectando las propiedades adhesivas de la bacteria. Comparten al menos un dominio Ra (por *Rhizobium adhering*) y con excepción de RapA2 (formada únicamente por dos dominios Ra) poseen otro dominio específico. En estudios previos demostramos que RapA2 es una lectina que une calcio capaz de interactuar específicamente con el CPS y el EPS de *R. leguminosarum*, indicando que uno o ambos dominios Ra exhiben actividad de lectina. Además, la ausencia o el aumento de RapA2 en el medio extracelular modificaron las propiedades de la matriz del biofilm. Por otro lado, RapD, posee un dominio Ra con mayor similitud al segundo dominio Ra (Ra2) de RapA2 y un dominio específico C-terminal de función desconocida. Nuestra hipótesis es que la interacción de RapD con el CPS y/o EPS, a través del dominio Ra2 cumple una función en la modulación de la estructura de la matriz del biofilm. El objetivo de este estudio es comprender la función de RapD en el desarrollo del biofilm.

Materiales y Métodos: Utilizando *R. leguminosarum* bv. *viciae* 3841 como modelo se generó una cepa mutante por deleción del gen rapD así como también una doble mutante "Delta"*rapD* y "Delta"*rapA2*. Se analizó mediante ELISA la interacción entre RapD recombinante y el EPS proveniente de distintas cepas así como la dependencia del calcio en esta unión. Los perfiles del EPS producido por los diferentes contextos genéticos se analizaron por HPLC, utilizando una columna Superosa 6 HR 10/30. Se estudió la capacidad de RapD recombinante de formar estructuras multiméricas mediante SLS.

Resultados: RapD recombinante fue capaz de interaccionar con el EPS en presencia de calcio. Además, la ausencia de RapA2 extracelular en la preparación (cruda) de EPS afecta la interacción entre RapD y el EPS. Más aún, el EPS producido por la doble mutante "Delta"*rapD* "Delta"*rapA2* mostró un perfil diferente en comparación con el EPS proveniente de las simples mutantes. Estas observaciones indican una interacción funcional entre ambas proteínas Rap. Por último, RapD fue capaz de formar estructuras multiméricas en presencia de calcio, lo cual sugiere que RapD, a diferencia de RapA2, se une al EPS como multímero.

Conclusiones: RapD es una lectina extracelular que se secreta junto a otras Rap(s) a través del sistema PrsDE; tiene la propiedad de interaccionar con el EPS en presencia de calcio, probablemente a través del dominio Ra2. Como resultado de esta interacción y la influencia de RapA2, la estructura del EPS se ve alterada. Estas observaciones abren interesantes interrogantes en cuanto a la función de proteínas extracelulares asociadas a la matriz de un biofilm.

Oral SAMIGE JU 7

0374 - EVALUACIÓN DE LA BACTERIZACIÓN DE DISTINTOS AISLAMIENTOS PROBIÓTICOS DE *PSEUDOMONAS* AUTÓCTONOS POST-INOCULACIÓN EN SEMILLAS DE MAÍZ

LORCH, Melani Gisele | VALVERDE, Claudio | AGARAS, Betina

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET

Introducción y Objetivos: Las bacterias del género *Pseudomonas* son habitantes naturales de los suelos, y diversas especies con preferencia de colonización rizosférica, capacidad de promoción del crecimiento vegetal y biocontrol son interesantes candidatas para el desarrollo de bioinsumos agrícolas. Nuestro laboratorio cuenta

con una colección de 20 aislamientos de *Pseudomonas* ya caracterizados *in vitro*, en términos de sus propiedades probióticas y antagonismo de hongos fitopatógenos (Agaras *et al.* 2015, doi: 10.1016/j.biocontrol.2015.07.003). Con el fin de profundizar en el conocimiento de capacidades ligadas a un buen desempeño como bioinsumo, el objetivo de este trabajo fue poner a punto la evaluación de la recuperación en semilla de un subgrupo 6 de aislamientos de diferentes taxones, en condiciones comparables a las de tratamientos con inoculantes a campo.

Materiales y Métodos: Para ello, en primer lugar, nos dedicamos a obtener derivados estables mediante vehiculización al cromosoma con Tn*7* (Lambertsen *et al.* 2004, doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00605.x) de genes que codifican proteínas fluorescentes y resistencia a antibióticos. A continuación, se comprobó por PCR la inserción sitio-específica del *cassette* en la región neutral esperada, la conservación de los fenotipos ya caracterizados en cada derivado marcado respecto del salvaje, y la estabilidad de la inserción cromosomal mediante evaluación del % de células resistentes a antibiótico luego de 240 generaciones sin presión de selección. Para evaluar la recuperación de los aislamientos en semillas de maíz (*Zea mays*), las semillas no estériles se inocularon según la dosis recomendada (7 ml/kg) con una suspensión bacteriana de DO600=1,0, con y sin el agregado de 28,6 % v/v del protector bacteriano Premax® (Rizobacter, Argentina). Inmediatamente luego de la inoculación, se recuperaron las bacterias adheridas y se realizaron recuentos de viables en placa por la técnica de gota en medio selectivo Gould S1, con el antibiótico del *cassette* Tn*7*. Las semillas restantes se colocaron en medio selectivo con el antibiótico para corroborar que todas hayan sido inoculadas. Como control positivo y referencia se utilizó la cepa *Pseudomonas* sp. 1008 presente en el bioinsumo comercial Rizofos® (Rizobacter, Argentina).

Resultados: Al evaluar el efecto del Premax®, la recuperación de los aislamientos RBAN4, RPAN1, SMMP3 y SPAN5 de las semillas fue mayor en presencia del aditivo (5,0x, 2,5x, 9,5x, 12,4x, respectivamente), al igual que para el control positivo (97,2x) (Kruskal Wallis, $p < 0,05$). Los aislamientos SVMP4 y SVBP6 mostraron esta tendencia, pero no fue significativa. En todos los casos las semillas incubadas en S1 mostraron estar bacterizadas, excepto para SBVP6 sin Premax® (11 de 16 semillas). RBAN4 y la cepa comercial mostraron los valores más altos de UFC/g recuperadas en presencia del aditivo respecto de la cantidad inoculada (7,88% y 1,71%, respectivamente), e incluso RBAN4 alcanzó una buena recuperación sin Premax® (1,58% contra 0,01% de la cepa comercial). Por otro lado, los valores de UFC recuperadas no correlacionaron significativamente con el número de UFC inoculadas (Spearman, $p < 0,05$).

Conclusiones: Estos resultados demuestran el desempeño particular de cada aislamiento, evidenciando factores intrínsecos de cada especie en la adhesión sobre la superficie de la semilla de maíz. Además, corroboramos que el uso del aditivo Premax® mejora la adherencia a la semilla, permitiendo obtener una mayor recuperación en 4 de los 6 aislamientos probados.

Oral SAMIGE JU 8

0629 - MODULACIÓN DE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN RESPUESTA A CONDICIONES DE ESTRÉS AMBIENTAL EN *SALMONELLA*

TULIN, Gonzalo | SONCINI, Fernando

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR

Introducción y Objetivos: La salmonelosis es una de las causas más comunes de intoxicación alimentaria y ocurre por ingesta de agua o alimentos contaminados con bacterias del género Salmonella. Los cuadros clínicos que caracterizan estas infecciones incluyen gastroenteritis y fiebre entérica. La supervivencia de *Salmonella* en el ambiente y su persistencia y transmisión entre hospedadores está fuertemente asociada a su capacidad para formar biopelículas. Para ello, las células motiles en estado libre se asocian entre sí y se adhieren a superficies sólidas, secretando compuestos que generan una matriz extracelular. Este comportamiento multicelular incrementa la resistencia del patógeno tanto a condiciones ambientales desfavorables, como a los mecanismos de defensa de los hospedadores. En enterobacterias, CsgD es el regulador maestro de la formación de biopelículas, responsable de la síntesis de la fimbria tipo curli, y de celulosa, principales componentes de matriz extracelular. Otros componentes de la matriz extracelular importantes para las biopelículas de esta bacteria son la cápsula de ácido colánico y la proteína asociada a membrana externa BapA. En este trabajo analizamos el rol de un factor de transcripción específico de *Salmonella*, BioR, en la transcripción de csgD y la formación de biopelículas.

Materiales y Métodos: Utilizamos el colorante rojo congo para determinar la formación de biopelículas en medio sólido, y el colorante cristal violeta para cuantificar la producción de matriz extracelular en medio líquido. El patrón de expresión de bioR fue monitoreado en distintas condiciones de cultivo utilizando tanto fusiones transcripcionales, con los reporteros lacZ y gfp, como anticuerpos específicos, mediante Western blot. A su vez, realizamos una búsqueda de blancos regulatorios de BioR a través de una mutagénesis al azar con el transposón MudJ.

Resultados: Determinamos que la expresión de bioR es máxima a bajas temperaturas y en medios mínimos. Observamos que BioR es requerido para la correcta producción de curli y celulosa, y para la persistencia de las

biopelículas. Identificamos distintos genes regulados por BioR que codifican tanto para componentes de matriz extracelular como para enzimas y transportadores de membrana involucrados en diversas vías metabólicas.

Conclusiones: Determinamos que BioR es un regulador transcripcional específico de *Salmonella* que modula la formación de biopelículas a bajas temperaturas y en medios carentes de nutrientes, favoreciendo la persistencia de este patógeno en condiciones ambientales extremas.

Pósters

Presentación de pósters SAMIGE 2

Jueves 26 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

SAMIGE - Biorremediación y Biocontrol

JU 202

0584 - CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE UN BIOEMULGENTE PRODUCIDO POR *BACILLUS ATROPHEAUS*

DELFINI, Claudio Daniel [1] | COLIN, Verónica Leticia[2] | VILLEGAS, Liliana Beatriz[1]

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. [1]; PROIMI [2]

Introducción y Objetivos: Los emulsionantes o emulgentes constituyen una categoría de compuestos anfifílicos, generalmente de naturaleza polimérica, capaces de solubilizar moléculas hidrofóbicas. Los emulgentes microbianos o bioemulgentes, se encuentran en diversos recursos naturales y pueden ser sintetizados por microorganismos en respuesta a diferentes estímulos ambientales. Estas biomoléculas tienen múltiples ventajas en comparación con sus homólogos de origen sintético: mayor biodegradabilidad, baja toxicidad, diversidad estructural, y la posibilidad de síntesis de novo a partir de materias primas baratas, etc. La función de los bioemulgentes está estrechamente relacionada con su dualidad estructural, lo que hace posible su uso en diversos sectores biotecnológicos, incluyendo la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética, o en la recuperación de petróleo, la remoción de metales pesados de aguas o suelos contaminados. El objetivo del este estudio fue evaluar la producción de un bioemulgente por *Bacillus atropheaus* PA14 y caracterizar parcialmente la naturaleza química del bioproducto.

Materiales y Métodos: *Bacillus atropheaus* PA14 se aisló de guano de murciélago y demostró en estudios anteriores poseer actividad quitinasa y antifúngica contra numerosos hongos fitopatógenos. La producción de bioemulgente por esta cepa se evaluó en el medio Standart Nutrient (g/L: NaCl 6; peptona 15; extracto de levadura 3; glucosa 1). La bacteria se incubó a 30°C y a 200 rpm durante 7 días, tomando muestras de cultivo cada 24 h. Se determinó la actividad emulgente en los sobrenadantes obtenidos por centrifugación (10 min a 10.000 g), por medio del índice de emulsificación sobre querosén luego de 24 h de reposo (E24). Al 7th día, se midió nuevamente la altura de la emulsión para determinar la estabilidad de la misma respecto al E24. Para estimar la naturaleza del bioemulgente, el sobrenadante se filtró a través de una membrana de celulosa (cut-off = 14,000 Da) durante 16 h a 4°C. El concentrado obtenido se disolvió en agua destilada y se sometió a tratamientos con: 30 U/mg de proteinasa K (4h a 37°C) para estimar la naturaleza proteica del bioemulgente, 100 U/mg de la lipasa comercial de *Candida rugosa* (1 h a 37°C) para investigar la presencia de lípidos, e hidrólisis ácida (a 10 min a 100°C) para determinar la presencia de azúcares. Después de cada tratamiento se determinó el E24 residual considerando como 100% al E24 de la muestra sin tratamiento.

Resultados: La máxima actividad emulgente se observó al 4th día de cultivo, con un E24 de 60%. Luego de 7 días de reposo, se determinó nuevamente la emulsión obteniendo una estabilidad del 90% Finalmente, los tratamientos con proteinasa K y la lipasa comercial, no tuvieron efectos significativos sobre el E24, el cual se mantuvo constante. Sin embargo, la hidrólisis ácida afectó la actividad emulgente en un 100%.

Conclusiones: Estos resultados demuestran la producción de un compuesto emulgente estable por una cepa ambiental, el cual podría ser un polisacárido.

JU 203

0588 - CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS EPIFITAS DE HOJAS DE VID PARA SU APLICACIÓN COMO BIOCONTROLADORES

MUNICOY, Julieta[1] | BERNABEU, Pamela[2] | LUNA, María Flavia[2] | **PISTORIO, Mariano** [1]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP [1]; CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CONICET-UNLP) [2]

Introducción y Objetivos: La vid es uno de los frutales más cultivados en el mundo; se trata de una planta perenne con alrededor de 24000 especies descriptas, siendo *Vitis vinífera L*. la única empleada para elaboración de vino. Se estima que el 66% de la producción mundial de uva se destina a la obtención de vinos y mostos. Sin embargo, y como consecuencia del cambio climático, se ha registrado una reducción de la superficie cultivada con viñedos, así como una mayor exposición de las plantas a la acción de patógenos que las afectan durante todo su ciclo vegetativo, razón por la cual se realizan múltiples esfuerzos destinados a proteger este cultivo durante todo su ciclo biológico. Una estrategia simple ha sido la aplicación de fungicidas y fertilizantes químicos, con los consiguientes problemas de contaminación ambiental, sumados a la inducción de mutaciones en los fitopatógenos por acción de los fungicidas químicos, que pueden resultar en el desarrollo de resistencia a los mismos. Por esto, tanto los vitivinicultores como la comunidad científica buscan alternativas para el manejo de plagas y la preservación de la fertilidad de los suelos en los viñedos, consistiendo una de ellas en la aplicación de microorganismos como sustituto de los productos químicos. Una característica importante para el éxito de la aplicación de microorganismos es la persistencia de los mismos en el ambiente a ser utilizado.

Resultados: En la provincia de Salta las vides se encuentran en altitudes que pueden superar los 1700 msnm. Este hecho plantea la necesidad de que los microorganismos a utilizar para controlar fitopatógenos de la parte aérea de la plata deban sobrevivir a la alta radiación UV. Entonces, con el fin de encontrar microorganismos que sean capaces de crecer en estos ambientes adversos y que presenten características promotoras del crecimiento vegetal y de biocontrol se realizaron aislamientos de hojas de vid. Se analizaron en total 328 aislamientos, realizados en medio LB y PSY a partir de las caras abaxial y adaxial de hojas de los cultivares Malbec y Cabernet Sauvignon provenientes de viñedos cultivados a 1700, 2200 y 2600 msnm. Posteriormente, se cultivaron en medios específicos para la detección de actividades enzimáticas normalmente involucradas en la capacidad de ejercer biocontrol y en la colonización y promoción del crecimiento vegetal. De los aislamientos analizados, se encontró que el 27% presentó actividad de la enzima celulasa, el 50% expresó proteasas, el 41% amilasas, el 10% celulasas, el 20% pectinasas y el 45% pudo solubilizar carbonato. Posteriormente, con aquellos aislamientos más promisorios luego del screening enzimático se realizaron ensayos de antagonismo con los hongos fitopatógenos *Alternaria alternata* y *Botrytis cinérea*, presentando algunos de ellos la capacidad de inhibir el crecimiento de estos hongos.

Conclusiones: Estos resultados nos permitirán avanzar en los ensayos de invernadero y a campo para la generación de un producto amigable con el medio ambiente.

SAMIGE - Microbiología ambiental y del suelo, Biodiversidad

JU 204

0593 - EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA Y GENES DE BIODEGRADACIÓN DE ALCANOS EN RESIDUOS DE SENTINAS DEL PUERTO DE MAR DEL PLATA

CORTI MONZÓN, Georgina [1] | PERESSUTTI, Silvia R[2] | NISENBAUM, Melina[3] | HOZBOR, Constanza[4] | JUNCA, Howard[5] | MURIALDO, Silvia[1]

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y AMBIENTE (INCITAA), FAC. INGENIERÍA, UNMDP [1]; INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PESQUERO (INIDEP), MAR DEL PLATA [2]; INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y AMBIENTE (INCITAA), FACULTAD INGENIERÍA, UNMDP [3]; INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PESQUERO (INIDEP), MAR DEL PLATA [4]; RG MICROBIAL ECOLOGY: METABOLISM, GENOMICS& EVOLUTION, MICROBIOMAS FOUNDATION [5]

Introducción y Objetivos: Los microorganismos son la fuente principal de biodiversidad en nuestro planeta y juegan un papel esencial en el mantenimiento de los ciclos biogeoquímicos y en diversos procesos como la depuración de ambientes contaminados. En los últimos años, las técnicas metagenómicas han brindado una nueva perspectiva sobre la diversidad microbiana y su funcionalidad en estos ambientes y su potencial genómico. Las aguas de sentina son residuos peligrosos generados en los barcos, que poseen un alto contenido de hidrocarburos (HC). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la composición de las comunidades microbianas presentes en residuos de sentinas mediante secuenciación masiva del gen ARNr 16S (Ilumina), y evaluar la ocurrencia del gen biomarcador de degradación de alcanos *alkB* utilizando la técnica de PCR-DGGE, con la finalidad de estimar el potencial de biodegradación de estas comunidades

Materiales y Métodos: Se identificaron las bacterias presentes en muestras de aguas de sentinas de un buque de altura (A), una lancha costera (C), una draga (D) y otra de agua de sentina estancada para su posterior tratamiento (M), todas provenientes del puerto de Mar del Plata, Argentina, mediante secuenciación del gen ARNr 16S. Por otro lado se evaluó la ocurrencia del gen *alkB* utilizando la técnica de PCR-DGGE.

Resultados: Los resultados mostraron una gran diversidad bacteriana en las diferentes muestras de sentina, con predominancia de OTUs con géneros asociados a la degradación de HC, como *Thalassopira*, *Parvibaculum*, y *Alcanivorax* en sentinas A, C y M, y *Thiococcus* y *Pseudomonas* en D. Otros miembros como *Marinobacter*, *Dongia*, *Marispirillum* fueron ubicuos en las muestras. El gen *alkB* mostró variación en los perfiles de PCR-DGGE entre las diferentes muestras de sentinas. Se evidenció una diversidad genética considerable de genes *alkB* predominantes en las muestras de sentinas, con un total de 19 bandas diferentes detectadas. Las secuencias genéticas obtenidas de las bandas se afiliaron en el GenBank con genes descriptos en cepas de los géneros *Rhodococcus*, *Marinobacter*, *Alcanivorax* y *Pseudomonas* y también con genes de bacterias no cultivables provenientes de muestras ambientales contaminadas con HC. A su vez, el estudio de diversidad por secuenciación masiva indicó la abundancia de géneros como *Sabulilitoribacter* y *Nisaea*, entre otros, para los cuales no se han descripto genes *alkB* o no se han asociado a degradación de HC. Estos géneros serían candidatos para estudios sobre la identificación de caminos metabólicos relacionados con procesos de biodegradación de HC.

Conclusiones: Los resultados de este trabajo contribuyen al conocimiento sobre la diversidad y funcionalidad de comunidades bacterianas autóctonas claves para el tratamiento de estos residuos. Junto con resultados previos obtenidos por nuestro grupo de trabajo, constituyen la base para la generación de nuevas tecnologías para el tratamiento de residuos de sentinas generados en el Puerto de Mar del Plata.

SAMIGE - Biorremediación y Biocontrol

JU 205

0606 - AISLAMIENTO Y DETECCIÓN DE HONGOS PRODUCTORES DE AFLATOXINAS EN CULTIVOS DE PISTACHO *PISTACIA VERA* L., DE LA PROVINCIA DE SAN JUAN

FLORES, Cintia Belen [1] | PESCE, Virginia[1] | PEDROZO, Paula[1] | LENCINAS, Marcos[2] | PONCE, Angelica[2] | VAZQUEZ, Fabio[3] | MATURANO, Paola[1] | NALLY, Cristina[1]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA-FACULTAD DE INGENIERÍA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN/CONICET [1]; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ [2]; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA- FACULTAD DE INGENIERÍA- UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN [3]

Introducción y Objetivos: El pistacho es un árbol dioico perteneciente a la familia de las Anacardiáceas. Su fruto es una drupa monosperma rica en aceite, la semilla se constituye como la parte comestible. A nivel mundial, se cultivan alrededor de 555.000 hectáreas de pistacho. En Argentina existen alrededor de 800ha cultivadas con pistacho, las cuales se distribuyen entre las provincias de San Juan (57%), Mendoza (23%), La Rioja (13%) y Catamarca (7%). El principal destino de los pistachos argentinos es el mercado italiano, japonés y el brasilero. Los pistachos pueden contaminarse con aflatoxinas (toxinas cancerígenas) que son micotoxinas producidas principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. La aflatoxina B1 es considerada la más tóxica. Debido a su alta toxicidad la concentración de aflatoxinas en frutos secos está regulada en muchos países del mundo. El objetivo del trabajo fue aislar e identificar hongos productores de aflatoxinas (*A. flavus* y *A. parasiticus*) de pistachos.

Materiales y Métodos: Aislamientos: muestras de granos de pistacho se tomaron asépticamente de árboles en una finca en San Juan. Los granos se colocaron en frascos de 50mL con agua destilada estéril y se agitaron durante 15 min. El sobrenadante (50µL) se sembró sobre medio de cultivo AFPA. Las placas se incubaron a 30°C durante 7 días. Las colonias se observaron en microscopio y también se observó la coloración del reverso de la placa, según Pitt & Hocking (2009). Identificación morfológica: los aislamientos fúngicos se identificaron a nivel morfológico de acuerdo con los protocolos de Klich & Pitt (1988). Los aislamientos se sembraron en tres puntos equidistantes en diferentes medios de cultivo MEA, CYA y CY20S. Las temperaturas de incubación fueron MEA, CYA y CY20S a 25°C; y CYA a 37°C durante 7 días. Detección cualitativa de aflatoxinas: Discos de micelio fueron sembrados asépticamente sobre medio agar coco CAM (Leche de coco al 30% agar). Los aislamientos se incubaron durante 3 días a 30°C. Las placas se colocaron bajo luz ultravioleta de 365 nm y se observó la presencia de halos de coloración fluorescente.

Resultados: Aislamientos: según las observaciones al microscopio, se aislaron 30 hongos con características morfológicas similares a las de las especies en estudio, los cuales también dieron positivos en la coloración naranja al reverso de la placa en AFPA. Identificación morfológica: según la metodología planteada, se obtuvieron un total de 12 aislamientos que se identificaron como posibles *A. flavus* y *A. parasiticus*. Presencia de aflatoxinas: los 12 aislamientos que fueron sometidos a la técnica de detección de aflatoxinas en medio agar coco dieron positivos.

Conclusiones: Determinar la presencia de hongos productores de aflatoxinas en los pistachos de San Juan es una herramienta clave para comenzar a tratar esta problemática que impide a los productores locales exportar sus productos a mercados internacionales.

JU 206

0617 - AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS A PARTIR DE EFLUENTES DE LA INDUSTRIA OLIVÍCOLA CON POTENCIAL BIORREMEDIADOR

FLAMARIQUE, Julieta | STOCCO, Antonella | SEVILLA, Carolina | **PONSONE, Lorena**

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA

Introducción y Objetivos: La República Argentina es el principal productor y exportador olivícola del continente americano. Según el Informe "La Olivicultura Argentina", realizado por el Ministerio de Agroindustria para la Semana de la Olivicultura (Junio 2018), durante el año 2017 nuestro país produjo 400.000 toneladas de aceitunas, convirtiéndose en el 6º exportador mundial de Aceitunas de Mesa. En Mendoza, el olivo representa la segunda especie frutícola con mayor superficie plantada, luego de la vid, alcanzando las 20.646 ha (datos del Censo Frutícola Provincial 2010, Instituto de Desarrollo Rural), y es una de las principales provincias productoras de aceitunas en conserva del país. Sin embargo, los efluentes de la industria aceitunera son descargados al ambiente sin un tratamiento adecuado. La eliminación segura de las lejías presenta severos problemas debido principalmente a los compuestos recalcitrantes que contiene y a la estacionalidad de la producción. Los objetivos de este trabajo fueron: -relevar la presencia de microorganismos en lejía de desamarizado, -aislar e identificar dichos microorganismos -caracterizar su crecimiento en medios de cultivo a base de lejía.

Materiales y Métodos: Se realizó el aislamiento de microorganismos a partir de efluentes a fin de seleccionar aquellos que crecieran en condiciones extremas en un medio sólido compuesto por un 100% de lejía. De un total de 31 aislados, se preseleccionaron 9 para continuar con los ensayos posteriores en función de su capacidad de crecimiento en un medio de cultivo líquido que contenía 100% lejía, una fuente de carbono en baja concentración, y sales minerales para aportar nitrógeno, fósforo y microelementos. Las cepas preseleccionadas se identificaron mediante secuenciación del 16sRNA.

Resultados: Las especies bacterianas encontradas fueron: *Pseudomonas stutzeri, Pseudomonas parafulva, Achromobacter kerstersii, Brevibacterium sediminis, Bacillus cereus, Ochrobactrum thiophenivorans* y *Ochrobactrum pseudogrignonense*. Luego de caracterizar el crecimiento de los microorganismos aislados en dicho medio de cultivo finalmente se seleccionaron 4 de los 9 aislamientos teniendo en cuenta su cinética de crecimiento (menor fase de latencia y mayor velocidad de crecimiento): *Pseudomonas parafulva, Achromobacter kerstersii, Brevibacterium sediminis* y *Pseudomonas stutzeri*. A su vez, con la finalidad última de poder aplicarlos en efluentes sin suplementación de fuente de carbono para abaratar costos y ganar practicidad, se evaluó el crecimiento de estos 4 aislamientos en el medio líquido sin el agregado de glucosa. Se observó que estos aislamientos seleccionados fueron capaces de crecer en estas condiciones nutricionales.

Conclusiones: Estos resultados son prometedores, y los ensayos para evaluar el potencial biorremediador de los efluentes de la industria aceitunera de estos aislamientos se encuentran en proceso de ejecución.

JU 207 0620 - DEGRADACIÓN DE CLORANFENICOL POR UNA COMUNIDAD BACTERIANA AUTÓCTONA EN UN REACTOR DE PELÍCULA BIOLÓGICA

FORTUNATO, María Susana [1] | GARCÍA LÓPEZ, Guadalupe[1] | CONTÍN, Mario Daniel[2] | TRÍPODI, Valeria[2] | GONZÁLEZ, Ana Julieta[1] | GALLEGO, Alfredo[1] | KOROL, Sonia Edith[1]

CÁTEDRA DE SALUD PÚBLICA E HIGIENE AMBIENTAL. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UBA [1]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA Y FISICOQUÍMICA. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UBA [2]

Introducción y Objetivos: Los antibióticos son contaminantes de preocupación emergente introducidos continuamente en el medio ambiente a través del vertido de efluentes cloacales, hospitalarios e industriales. La industria farmacéutica genera efluentes que pueden contener concentraciones considerables de antibióticos. Actualmente el cloranfenicol (CF) se emplea en formulaciones de productos antiacnéicos, oftálmicos y óticos de uso local. Su llegada al medio ambiente representa una amenaza potencial para la salud humana debido a que puede contribuir a la selección de bacterias resistentes. En las plantas de tratamiento de efluentes diseñadas para eliminar contaminantes convencionales su remoción es ineficiente, el desafío actual es diseñar tratamientos que constituyan una alternativa económica y eficiente. En trabajos previos, se seleccionó una comunidad bacteriana autóctona compuesta por dos cepas identificadas como pertenecientes a los géneros Achromobacter y Comamonas que fue capaz de degradar CF en procesos batch. Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar la capacidad de la comunidad bacteriana previamente seleccionada, para depurar un efluente sintético con CF mediante el empleo de un reactor continuo de película biológica (RPB).

Materiales y Métodos: El tratamiento se llevó a cabo en un reactor de película biológica de lecho fijo y flujo ascendente de 2,3 L de capacidad, que fue alimentado con un efluente sintético con CF. El mismo operó en forma continua durante 5 meses sin necesidad de reinoculación en condiciones ambientales. Se empleó esponja de poliuretano como medio soporte para el desarrollo de la biopelícula. El proceso de biodegradación fue evaluado mediante la determinación de la concentración de CF por espectrofotometría UV (280nm) y

Cromatografía Líquida de Alta Performance a la entrada y salida del reactor. La eficiencia del tratamiento se evaluó mediante demanda química de oxígeno (DQO). La ausencia de efecto inhibitorio en el efluente tratado se estudió empleando *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 como cepas sensibles a CF mediante el método de difusión en agar según Bauer y Kirby.

Resultados: Los resultados obtenidos demostraron que la comunidad bacteriana fue capaz de remover una concentración inicial de hasta 50 mg/L de CF con un porcentaje de remoción mayor a 99%. La carga máxima de compuesto removida fue de 21,74 g/m3día, con una eficiencia mayor a 95% expresada en términos de remoción de DQO. Los ensayos de sensibilidad a CF demostraron la ausencia de efecto inhibitorio en el efluente tratado.

Conclusiones: La selección y optimización de microorganismos autóctonos con capacidad para degradar CF empleando un reactor continuo de película biológica puede ser una estrategia apropiada para lograr una mayor eficiencia del proceso de tratamiento con el fin de disminuir su impacto ambiental.

JU 208 0718 - EFECTO DEL METABISULFITO DE SODIO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LEVADURAS BIOCONTROLADORAS Y *PENICILLIUM EXPANSUM,* PATOGENO DE UVA DE MESA EN POSTCOSECHA

PEDROZO, Paula [1] | RODRIGUEZ, Leticia[2] | FLORES, Cintia Belen[1] | PESCE, Virginia[1] | LENCINA, Marcos[3] | NALLY, Cristina[1] | VAZQUEZ, Fabio[4]

IBT-FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ/CONICET [1]; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES - UNSJ [2]; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ [3]; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA - FACULTAD DE INGENIERÍA - UNSJ [4]

Introducción y Objetivos: San Juan es el primer productor y exportador de uva en fresco del país, fruto que en condiciones de cámara frigorífica es sensible al ataque de *P. expansum*. El método comúnmente empleado para controlar a este hongo fitopatógeno es a través de generadores de SO_2, cuyo ingrediente activo es el metabisulfito de sodio ($Na_2S_2O_5$). El control biológico usando levaduras antagonistas resulta promisorio para reducir el uso de fungicidas químicos. Sin embargo, su aplicación puede ser insuficiente para controlar satisfactoriamente enfermedades fúngicas. Una propuesta es la integración de antagonistas y fungicidas sintéticos, con el fin de disminuir las dosis de químicos e incrementar la aceptación a nivel comercial, permitiendo así su uso en un marco de manejo integrado de enfermedades fúngicas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia de levaduras biosupresoras y hongos fitopatógenos al $Na_2S_2O_5$ en condiciones de postcosecha.

Materiales y Métodos: Se emplearon 20 aislamientos de levaduras biosupresoras pertenecientes a las especies *Aeurobasiduim pullulans* (Ap13, 77, 88), *Cryptococcus magnus* (Cm15, 23, 85), *Metschnikowia pulecherrima* (Mp8, 11, 16, 22, 36, 43, 45, 46, 47, 53), *Rhodotorula glutinis* (Rg4, 14, 19, 56); y 4 hongos fitopatógenos de la especie *P. expansum* (PSS4, PSS6, PM3RG, PRG2). Las levaduras y los hongos se sembraron individualmente en YEPD-Agar y PDA, respectivamente. Cada medio se suplementó con diferentes concentraciones de $Na_2S_2O_5$: 0 (tratamiento control), 2.5, 5, 7.5, 10 y 12.5 mM. Las placas se incubaron a 2 ± 1 °C durante 4 semanas. Luego, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para todos los microorganismos y, la concentración que reduce 50% el crecimiento (EC50) para los fitopatógenos. La EC50 se calculó con análisis Probit. Los ensayos se realizaron por triplicado y se repitieron dos veces.

Resultados: La actividad antifúngica de $Na_2S_2O_5$ mostró efectos variables sobre el crecimiento de los 4 fitopatógenos. La inhibición completa de crecimiento de PSS4 y PRG2 se alcanzó a la concentración de 10 mM, mientras que la CMI de los aislamientos PSS6 y PM3RG fueron a 5 y 7.5 mM, respectivamente. Las EC50 mostraron diferencias significativas entre los patógenos, siendo PSS6 el aislamiento más sensible y PM3RG el patógeno más resistente a la sal inorgánica. Los aislamientos restantes no mostraron diferencias significativas para estos valores. Respecto a las CMI de las levaduras, 12 de ellas presentaron resistencia a diferentes concentraciones de $Na_2S_2O_5$. Los aislamientos Mp8, 11, 22 y 43 fueron inhibidos por completo a 12.5 mM. El aislamiento Cm16 fue el único que mostró resistencia a todas las concentraciones probadas. Todos los aislamientos de R. glutinis fueron sensibles a la sal inorgánica.

Conclusiones: De acuerdo a los resultados obtenidos se podría implementar la aplicación combinada de la levadura Cm16 con $Na_2S_2O_5$, para controlar a *P. expansum* en condiciones de postcosecha.

JU 209
0732 - OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOFILM DE *MICROBACTERIUM OXYDANS* AE038-20 PARA LA RETENCIÓN DE ESPECIES DE ARSÉNICO

SPUCHES, Florencia Cecilia[1] | SALES, Adriana M.[2] | GALVÁN, Adriana Emilce[1] | CHÁVES, Silvina[3] | ROMERO, Cintia Mariana[1] | **FERRERO, Marcela** [4]

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. [1]; FACULTAD DE BIOQUIMICA, QUIMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN. [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN MEDICINA MOLECULAR Y CELULAR APLICADA (IMMCA-CONICET) [3]; YPF TECNOLOGÍA (Y-TEC)-CONICET [4]

Introducción y Objetivos: El arsénico (As) es un elemento altamente tóxico, distribuido en diversos ambientes y sujeto a una amplia gama de transformaciones biogeoquímicas que implican numerosas bacterias. La habilidad de los microorganismos de congregarse en biofilms presenta ventajas respecto de los cultivos planctónicos. Entre dichas ventajas, la tolerancia a compuestos tóxicos y su capacidad de retención/transformación es de interés biotecnológico para su aplicación en biorremediación. Estudios preliminares determinaron que *Microbacterium oxydans* AE038-20 es capaz de formar biofilm, metabolizar compuestos orgánicos del As y de oxidar parcialmente As(III) a As(V). El objetivo de este trabajo fue optimizar la producción de biofilm en *Microbacterium oxydans* AE038-20.

Materiales y Métodos: Para la optimización del medio de cultivo se utilizó el software MINITAB 17. Los factores estudiados fueron: peptona de carne, tripteína, glicerol, glucosa, KNO3 y MnCl2. La variable respuesta ensayada fue el peso seco del biofilm. Tanto el biofilm obtenido como sus componentes fueron caracterizados mediante microscopía electrónica de barrido con detector EDS (SEM-EDS), Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR) y, se determinó la presencia y cinética de producción de proteínas estructurales del tipo amiloidea por fluorescencia utilizando tioflavina-T (Th-T). Además, en el biofilm se evaluó la capacidad de absorción de As total, realizando una cinética de adsorción durante 5 días. La concentración de As fue determinada por Espectrometría de Absorción Atómica con Vaporización Electrotérmica (ETAAS) y por SEM-EDS.

Resultados: El análisis de los resultados del diseño experimental, determinó la composición del medio de cultivo optimizado de la siguiente manera: NaCl (5 g/l), extracto de levadura (2,5 g/l), peptona de carne (15 g/l), MnCl2 200 mM, glicerol 2%. El biofilm obtenido observado por SEM mostró presencia de células microbianas embebidas en exopolisacárido (EPS), formaciones fibrilares y formación estructurales en redes. Además, se evaluó la presencia de proteína amiloidea mediante una cinética de producción observando una disminución de fluorescencia durante el tiempo de maduración del biofilm, indicando saturación de los sitios de unión cross-β. Mediante ETAAS se observó una disminución en la concentración de arsénico en un agua arsenical con 795 mg/l en el T0 de tratamiento a una concentración de 533 mg/l en el T5, aproximadamente una reducción del 33%. La presencia de As en el biofilm se determinó por SEM-EDS observando un incremento en la presencia de As a medida que aumentó el tiempo de contacto con el agua arsenical.

Conclusiones: De esta manera, se optimizó por primera vez la producción de biofilm en una cepa de *Microbacterium oxydans*. El biofilm demostró capacidad de retención de As, el cual podría estar adsorbido en los componentes del mismo y potencialmente biotransformado (hipótesis a demostrar mediante ensayos de especiación) considerando que este microorganismo tiene la capacidad de oxidar As.

JU 210

0736 - DECOLORACIÓN DE AZUL DE METILENO EMPLEANDO AL HONGO AUTÓCTONO DE MISIONES: *PHLEBIA BREVISPORA* BAFC 633

AYALA SCHIMPF, Alan Rolando | GIORGIO, Ernesto Martín | ZAPATA, Pedro Darío | FONSECA, María Isabel

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR – INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES – UNIVERSIDAD NACIONAL

Introducción y Objetivos: Los colorantes presentes en efluentes textiles se consideran compuestos altamente recalcitrantes por su resistencia a la luz solar, temperatura y ataque microbiano. Además, pueden causar diversos efectos adversos en los ecosistemas acuáticos, demostrándose un efecto carcinogénico y mutagénico en diferentes organismos. Por ello, han sido tratados con diferentes tecnologías fisicoquímicas y biológicas, siendo las últimas menos costosas y de mayor eficiencia. Se ha demostrado que las enzimas ligninolíticas producidas por hongos de pudrición blanca poseen la capacidad de decolorar efluentes textiles conteniendo colorantes como azul de metileno en distintas concentraciones. Sin embargo, el rendimiento del proceso sigue siendo un factor limitante para su aplicación. El objetivo del trabajo fue evaluar la habilidad del hongo de pudrición blanca *Phlebia brevispora* BAFC 633 en la remoción del colorante azul de metileno en su forma libre e inmovilizada.

Materiales y Métodos: *P. brevispora* se activó en medio MEA (12,7 g/L extracto de malta y 20 g/L agar); para obtener los inóculos se cortaron tres tacos (Ø 5 mm) de micelio joven y se cultivaron en medio ME (12,7 g/L de extracto de malta y 5 g/L de extracto soluble de maíz) durante 9 días a 29°C. Para los experimentos de remoción se utilizó el colorante azul de metileno a concentración de 150 ppm, realizándose tratamientos con micelio libre e inmovilizado en soporte de acero inoxidable (SAI, 1,6 g/L) con y sin el agregado de sulfato de cobre a una concentración de 0,5 mM. Los tratamientos controles consistieron en medio ME suplementado con colorante y la presencia de biomasa muerta con o sin soporte. La actividad lacasa fue monitoreada en espectrofotómetro a 496 nm utilizando 2,6 dimetoxifenol (DMP) 5 mM en BUFFER acetato de sodio pH 3,6. El perfil isoenzimático y la estimación del peso molecular de la lacasa se realizó por zimografía utilizando DMP

como sustrato. La determinación cuantitativa de la remoción del colorante se realizó por espectrofotometría a 669 nm, utilizando una curva patrón como estándar.

Resultados: El mayor porcentaje de remoción se obtuvo al 7mo día de incubación, siendo de 99,9% para el micelio inmovilizado y del 98% para el micelio libre. La máxima actividad lacasa se observó al 6to día de incubación con 1592 U/L para el micelio inmovilizado en SAI adicionada con cobre mientras que para la biomasa libre con cobre se registró una actividad aún mayor, siendo de 2371 U/L ($p<0,001$). Se observó la presencia de una isoenzima constitutiva de 60 kDa en todos los tratamientos, mientras que una isoenzima de 75 kDa se registró únicamente en los tratamientos adicionados con cobre.

Conclusiones: A partir de los resultados obtenidos se vislumbra que *P. brevispora* BAFC 633 posee una prometedora capacidad de remoción del colorante tiazina azul de metileno, tanto en su forma libre como inmovilizada, característica que podría ser aprovechada en aplicaciones biotecnológicas como la decoloración de efluentes textiles.

JU 211

0773 - EFECTO DEL ACONDICIONAMIENTO FISIOLÓGICO SOBRE LA EFICACIA DE DOS LEVADURAS SELECCIONADAS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO EN POSTCOSECHA DE PERAS.

GRAMISCI, Betina | FERRARI, Ana | **SANGORRIN, Marcela Paula**

PROBIEN (CONICET-UNCO) NEUQUEN, ARGENTINA

Introducción y Objetivos: *Pichia membranifaciens* NPCC 1250 y *Vishniacozyma victoriae* NPCC 1263 fueron seleccionadas en trabajos previos como agentes de control biológico (ACB) frente a fitopatógenos en peras de postcosecha. La producción de biomasa de levaduras a escala industrial requiere el empleo de residuos con la intención de reemplazar insumos costosos en la elaboración de los medios de cultivo. En este trabajo se evaluará si las diferentes condiciones de cultivo afectan el acondicionaminto fisiologico de las levaduras y si esto influye en la capacidad antagonica de las mismas frente a los fitopatógenos a controlar en pera. El estudio de resistencia de las levaduras a condiciones de estres permitirá conocer la capacidad de las mismas para soportar las condiciones de producción, comercialización y aplicación de las mismas como ACB.

Materiales y Métodos: Para cada levadura se desarrollaron medios de cultivo a partir de diferentes residuos; para P. membranifaciens se empleó un residuo de sidrera (RS) y melaza de caña de azúcar (MB) y para V. victoriae se empleó melaza de caña de azúcar en diferentes composiciones (MB) y (MO). La induccion de sistemas de defensa al estrés fue evaluada por los niveles intracelulares de trehalosa y la resistencia al peróxido de hidrogeno 30 mM (viabilidad, nivel de especies reactivas de oxígeno (EROs), de glutatión reducido (GSH) y la actividad catalasa (CAT)). La capacidad antagónica de las levaduras se determinó por el crecimiento en heridas de peras y por el biocontrol in situ frente a Penicillium expansum y Botritys cinerea

Resultados: Para *V. victoriae* los mayores porcentajes de viabilidad (55%) se obtuvieron en las levaduras crecidas en MB, presentaron mayor contenido de GSH (8-13 mnmol/mgproteina) y de trehalosa (1,37 mg/PS) comparada con las levaduras crecidas en MO. La actividad CAT disminuyó con la exposición al H2O2 1 h en células crecidas en MO (22%) pero aumentó en el medio MB (45%) y la producción de EROs aumentó 2 veces en MB contra 5 veces en MO a las 2 h de exposición a H2O2. En el caso de *P. membranifaciens* crecida en RS y MB los porcentajes de viabilidad fueron mayores en las levaduras crecidas en MB, pero el contenido de trehalosa (164 mg/PS) y de GSH fue mayor las levaduras en las crecidas en RS. La actividad CAT de la levadura crecida en MB y expuesta a H2O2 no presentó diferencias significativas con respecto al control, si bien se observó una tendencia a disminuir en la condición estresante, en cambio en EROs no se observaron diferencias significativas entre las levaduras crecidas en las dos condiciones. P. membranifaciens producida en RS redujo la incidencia para ambos fitopatógenos entre el 90-95% y presentó una mayor capacidad de colonización (tres veces mas UFC/heridas) que cuando se creció en MB.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que la resistencia al estrés oxidativo podría representar un mecanismo por el cual *V. victoriae* y *P. membranifaciens* mejoran la eficacia como ACB, cuando se desarrollan en MB y RS respectivamente.

JU 212

0979 - EFECTO DE LAS LEVADURAS VITIVINÍCOLAS SOBRE LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA DE LECHUGA (*LACTUCA SATIVA* L.)

LENCINAS, Marcos [1] | FLORES, Cintia Belen[2] | PEDROZO, Paula[2] | PESCE, Virginia[2] | VAZQUEZ, Fabio[3] | NALLY, Cristina[2]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNSJ [1]; IBT, FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET [2]; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA - FACULTAD DE INGENIERÍA - UNSJ [3]

Introducción y Objetivos: La lechuga es una planta herbácea, anual y autógama perteneciente a la familia Compositae. En San Juan, además de la producción de lechuga para consumo interno, se producen semillas de esta hortaliza. La germinación de semillas de lechuga, en invernaderos de la provincia, fue afectada por la presencia de *Botrytis cinerea* impidiendo la emergencia de la plántula. El uso de levaduras antagonistas como agentes de biocontrol ha sido propuesto como una alternativa para reducir el uso de fungicidas químicos y sintéticos minimizando el impacto de los mismos sobre la salud humada y el medio ambiente. Sin embargo, se desconoce si las levaduras afectan negativamente o positivamente la germinación de las semillas de lechuga y por lo tanto la producción de esta hortaliza. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las levaduras vitivinícolas sobre la germinación de las semillas de lechuga, en condiciones in vitro.

Materiales y Métodos: 1- Inóculo de levaduras: Se ensayaron 16 levaduras vitivinícolas (15 *Saccharomyces cerevisiae* y 1 *Schizosaccharomyces pombe*) que presentaron actividad antifúngica frente a *B. cinerea* en granos de uva. 2- Análisis de toxicidad de las levaduras sobre semillas de lechuga: Semillas de lechuga pre-esterilizadas con hipoclorito de sodio se colocaron sobre papel humedecido con 6 mL de agua destilada estéril en cajas de plástico con tapa. Posteriormente las semillas fueron inoculadas puntualmente con una solución de levaduras vitivinícolas y agua destilada estéril (20 µL, 10^6 cel/mL). Las cajas se incubaron en cámara de germinación a 20° C con alternancia de luz (12 horas de luz/12 horas de oscuridad) y 90% humedad. Se consideró una semilla germinada cuando el largo de la radícula alcanzó más de 3mm. Se evaluó la capacidad germinativa de 400 semillas por tratamiento a los 4 y 7 días de haber comenzado el ensayo mediante la siguiente fórmula: % de germinación= (nº semillas germinadas/nº semillas totales) x 100. Control: Semillas inoculadas solo con agua destilada estéril (20 µL) e incubadas en las mismas condiciones anteriormente mencionadas.

Resultados: A los 4 días, las semillas inoculadas con las cepas *S. pombe* (BSchp67) y *S. cerevisiae* (BSc92, BSc121 y BSc203) incrementaron significativamente su tasa germinativa entre un 2,08% y 4,16% en relación al control. La aplicación de las levaduras restantes no provocó aumento o disminución en la tasa de germinación en relación al control. Posteriormente, a los 7 días, las semillas inoculadas con *S. pombe* (BSchp67) y *S. cerevisiae* (BSc5, BSc16, BSc61, BSc64, BSc68, BSc92, BSc121, y BSc203) mostraron un aumento significativo en el porcentaje de germinación de un 2,04% con respecto al control. Las semillas inoculadas con las levaduras restantes no mostraron diferencias significativas con respecto al control.

Conclusiones: Los experimentos in vitro revelaron que las levaduras vitivinícolas autóctonas (15 *S. cerevisiae*, 1 *Sch. pombe*) no afectan negativamente la germinación de las semillas de lechuga, por lo tanto podrían utilizarse como posibles agentes de biocontrol en condiciones de invernadero.

SAMIGE - Biotecnología y Fermentaciones

JU 213

0358 - OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE UNA CEPA AUTÓCTONA EN UN MEDIO FORMULADO A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES: VIABILIDAD Y ACTIVIDAD METABÓLICA

BERET, Victoria[1] | **PERALTA, Guillermo** [1] | VERA-CANDIOTI, Luciana[2] | HYNES, Erica[1] | BERGAMINI, Carina[1]

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL/ INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL [1]; FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS- UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [2]

Introducción y Objetivos: La producción industrial de concentrados y aislados de proteínas provenientes de la harina de soja genera grandes cantidades de residuos líquidos, los cuales contienen una gran cantidad de nutrientes que podrían ser aprovechados por la industria de fermentos para la formulación de medios de cultivos económicos. En el presente trabajo se optimizó mediante la metodología de superficie de respuesta la producción de biomasa de *Lactobacillus paracasei* 90 (L90) en un medio de cultivo formulado principalmente con el residuo líquido resultante de la separación de proteínas/fibras de la harina de soja. Una vez optimizado el medio (MO), se evaluó la actividad metabólica de las células de L90 desarrolladas en el mismo.

Materiales y Métodos: La optimización se realizó mediante un diseño experimental central compuesto fraccionado con 4 factores (permeado de suero de queso, extracto de levadura, Mg y Mn), un total de 22 puntos experimentales, 6 de los cuales son puntos centrales, y fueron realizados en 2 bloques. La cepa L90 se inoculó al 2% en cada combinación de variables propuestas por los puntos experimentales del diseño y se incubó 24h a 34°C. La respuesta del diseño (biomasa) se evaluó mediante recuentos en placa, peso seco y

densidad óptica (DO). Para evaluar la influencia del medio de crecimiento en la actividad del fermento, en el MO se evaluó pH, producción de ácidos y consumo de azúcares por L90, y se comparó con el comportamiento en el medio comercial MRS. Además, la actividad de L90 se evaluó por otros dos ensayos. En el primero se analizó la actividad lactato dehidrogenasa (LDH) en extractos libres de células obtenidos mediante disrupción celular. En el segundo ensayo, las células crecidas en MO y en MRS fueron inoculadas al 2% en leche e incubadas a 37ºC durante 24h; en la leche fermentada (LF) se analizó el perfil de fermentación y el recuento de L90. Todas las experiencias se realizaron por triplicado.

Resultados: En el MO se alcanzaron elevados niveles de biomasa de L90 (9,4±0,1 log, 1,39±0,1 de peso seco y 4,3±0,2 de DO), aunque los valores fueron significativamente ($p<0,05$) menores que los obtenidos en el MRS (9,8±0,1 log, 2,49±0,1 de peso seco y 6,8±0,2 de DO). La glucosa es el principal carbohidrato en el MRS, la cual fue consumida casi totalmente por L90 durante la incubación, mientras que los azúcares presentes en el MO y que disminuyeron por la presencia de L90 fueron sacarosa/lactosa (que coeluyen en los cromatogramas). La producción de los ácidos láctico y acético en el MO fue menor que en el MRS, aunque el pH fue más bajo, lo que sugiere una menor capacidad buffer en el MO. Los recuentos de L90 en la LF alcanzaron 9 log UFC/mL, independientemente del medio de cultivo empleado. Se observaron diferencias en la producción de ácidos orgánicos en leche según el medio de crecimiento. Los niveles de láctico y acético en la LF inoculada con las células provenientes del MRS (LF-MRS) fueron mayores que en la LF-MO. Contrariamente, en LF-MO se observó mayor concentración de ácido pirúvico que en la LF-MRS. Estos resultados se correlacionaron con menores niveles de LDH en las células crecidas en el MO.

Conclusiones: El medio de cultivo optimizado resultó adecuado para obtener elevados niveles de biomasa de L90 requeridos para la producción industrial de la misma. El bajo costo de este medio, sumado a que podría reducir la capacidad acidificante del fermento, lo convierten en un medio industrial alternativo de interés.

JU 214

0370 - OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ESTIRENO EN *ESCHERICHIA COLI* CON *PHAP*

CAGNOLA, Gonzalo Nicolás | EGOBURO, Diego Ezequiel | MEZZINA, Mariela Paula | PETTINARI, Julia

IQUIBICEN

Introducción y Objetivos: El estireno, utilizado en la producción de numerosos polímeros, es actualmente obtenido por síntesis química a partir de recursos no renovables. Este compuesto puede obtenerse en microorganismos utilizando sustratos renovables a partir de una vía metabólica *de novo* basada en la conversión de fenilalanina. Esta vía implica la desaminación de la fenilalanina a trans-cinamato, catalizada por la enzima *pal* y luego una descarboxilación catalizada por la enzima *fdc*. Este sistema de producción se ve limitado por la alta toxicidad del estireno para los microorganismos. Para reducirla se han utilizado estrategias como el uso de cultivos bifásicos y el uso de chaperonas. Si las bacterias crecen en presencia de un solvente orgánico biocompatible, el estireno se extrae *in situ*, reduciendo el contacto del compuesto con las células. El uso de chaperonas mejoran la tolerancia a compuestos tóxicos como los solventes orgánicos. Recientemente se descubrió que las phasinas o PhaP, proteínas asociadas a polímeros biodegradables bacterianos (polihidroxialcanoatos o PHA), poseen actividad chaperona e incrementan la tolerancia y la producción de etanol, butanol y 1, 3-propanodiol. El objetivo principal es obtener una cepa de *E. coli* productora de estireno y estudiar el efecto de distintas modalidades de cultivo y la sobreexpresión de phaP en la producción del compuesto.

Materiales y Métodos: Para la obtención de las cepas productoras *E. coli* BL21 fue transformada con 3 plásmidos, conteniendo los genes *pal*, *fdc* y *phaP*, provenientes de *Rhodosporidium toruloides*, *Saccaromyces cerevisae* y *Azotobacter* sp. FA8 respectivamente. En el caso de *phaP* el plásmido vacío se utilizó como control. Se realizaron cultivos aeróbicos en frasco agitado monofásicos (5 ml de medio M9 suplementado con glucosa y fenilalanina) o bifásicos (5 ml de medio + 1 ml de dodecano). Luego de inducir todas las proteínas, se dejó crecer 48 hs. Para determinar la concentración de estireno se agregó n-hexano hasta llegar a un volumen final de 2 mL de fase orgánica, en la cual se determinó la concentración por Cromatografía Gaseosa. Se realizó un ANOVA con un nivel de significancia de 0,05 y se utilizó una comparación de Tukey.

Resultados: Las cepas de menor producción fueron las crecidas en cultivos monofásico, indistintamente de la presencia de PhaP en el crecimiento de las bacterias. La cepa productora sin PhaP en cultivo bifásico produjo el doble de estireno que las producciones en monofase y por último, el cultivo bifásico que expresa PhaP produjo casi 3 veces más estireno que la cepa previamente mencionada y 7 veces más que en cultivo monofásico, llegando a producir hasta 159 mg/L.

Conclusiones: La combinación de estrategias utilizadas permitió obtener una muy buena producción de estireno a partir de una cepa recombinante de E. coli. En base a estos resultados prometedores se realizarán cultivos en biorreactores, donde se espera que el efecto de PhaP sea mayor.

JU 215

0410 - PRODUCCIÓN DE MANITOL POR *FRUCTOBACILLUS* EN PRESENCIA DE DIFERENTES ACEPTORES DE ELECTRONES

MOHAMED, María Florencia | RAYA, Raúl Ricardo | MOZZI, Fernanda

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Las bacterias lácticas (BL) fructofílicas se encuentran en nichos ricos en fructosa como frutas y flores y poseen la capacidad de producir manitol, un edulcorante natural de bajas calorías. Dentro de este grupo, el género Fructobacillus es incapaz de reducir acetil-CoA a etanol por lo que usa aceptores de electrones como fructosa, piruvato u oxígeno para regenerar el poder reductor. Nuestro objetivo fue estudiar el crecimiento, producción de manitol y actividad manitol 2-deshidrogenasa (MDH) de *Fructobacillus* en presencia de fructosa, piruvato y oxígeno.

Materiales y Métodos: Las cepas *F. durionis* CRL 2054 y *F. tropaeoli* CRL 2034 y la mutante *F. tropaeoli* CRL 2034::ldh1 se cultivaron a 30 °C 24 h en medios con: 1) glucosa (GYP) , 2) fructosa (FYP), 3) glucosa y fructosa (1:2, FGYP), 4-6): medios 1-3 con piruvato (+pir) y 7-9): medios 1-3 con agitación (+ag). Se evaluó crecimiento (DO600) y se midió producción de manitol y actividad MDH (4 h) en medios con fructosa.

Resultados: Todas las cepas crecieron óptimamente en medios con glucosa y fructosa (con piruvato, agitación o en ausencia de ambos) y en GYP+pir mientras que no crecieron solo con glucosa. *F. durionis* creció más lentamente en FYP con piruvato u oxígeno. La mutante CRL 2034::ldh1 presentó menor crecimiento en todos los cultivos debido al desbalance redox celular causado por ausencia de actividad LDH. La producción de manitol por los fructobacilos fue de 7,9-12,3 g/l en los medios FYP y FGYP siendo menor en los medios con piruvato (1,3-9,3 g/l) indicando competencia de piruvato con fructosa por los electrones. Este efecto fue más marcado con *F. durionis* que mostró los menores rendimientos de producción de manitol. La producción de manitol por la mutante ::ldh1 fue 8,4–12,3 g/l en todos los medios siendo su producción específica mayor que la de las cepas salvajes. La actividad MDH de *F. durionis* CRL 2054 y *F. tropaeoli* CRL 2034 fue mayor en el medio FGYP con respecto a los demás medios para ambas cepas siendo la de *F. tropaeoli* (6,63 U/mg) 1,6 veces mayor que la de *F. durionis* (3,59 U/mg). La adición de piruvato causó una disminución de la actividad en todos los casos.

Conclusiones: Los resultados demostraron que el piruvato compite con la fructosa como aceptor de electrones provocando un descenso en la producción de manitol y actividad MDH en los fructobacilos estudiados. Este efecto no fue tan marcado para el oxígeno. *F. tropaeoli* presentó mayor actividad MDH que *F. durionis* que mostró disminución en el crecimiento y en el consumo de fructosa en presencia de otros aceptores de electrones. Finalmente, la mutante de *F. tropaeoli* produjo elevadas cantidades de manitol a pesar de su lento crecimiento en las diferentes condiciones.

JU 216

0476 - PRODUCCION FOTOSINTETICA DE AZUCARES FERMENTABLES A PARTIR DE AGUA DE MAR

SANZ SMACHETTI, María Eugenia [1] | CORONEL, Camila Denise[1] | SALERNO, Graciela L.[2] | CURATTI, Leonardo[1]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC-CONICET) Y FIBA [1]; FUNDACIÓN PARA INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS APLICADAS (FIBA) [2]

Introducción y Objetivos: La producción a gran escala de biocombustibles de tercera generación presenta varias limitaciones que deben superarse para lograr una comercialización masiva y rentable de los mismos. El pretratamiento y la sacarificación de la biomasa que se utiliza para transformar los carbohidratos insolubles en azúcares fermentables son algunas de ellas. Una alternativa es cultivar cepas que acumulen sacarosa, un azúcar soluble y de fácil extracción, como respuesta a estrés salino. Esta estrategia se podría combinar con la utilización de agua de mar o salobre para la inducción, reduciendo los costos y el impacto ambiental en cultivos a gran escala. Este trabajo buscó identificar y seleccionar cepas de microalgas que acumulen sacarosa, y optimizar las condiciones de cultivo en agua de mar sintética.

Materiales y Métodos: Se realizó una bioprospección de 30 cepas de microalgas de agua dulce y se seleccionó a *Desmodesmus* sp. cepa P5. Para el análisis del efecto de la preaclimatación al estrés salino, P5 fue inducida inicialmente con 100 mM NaCl y a los tres días llevada a 400 mM NaCl; o cultivada por tres días en medio estándar y luego inducida con 400 mM NaCl. Para estudiar el efecto de la concentración de nitrógeno (N), el medio fue suplementado con 1, 3, 6 o 10 mM $NaNO_3$, y en ausencia o en presencia de NaCl. Para evaluar la posibilidad de utilizar agua de mar, las cepas fueron cultivadas inicialmente en medio BG11 con suficiencia de N (10 mM $NaNO_3$) y 100 mM NaCl. Luego de tres días, se agregaron 3 volúmenes de medio BG11 preparado en agua de mar artificial y se dejó crecer por seis días más. Todos los experimentos fueron realizados en luz

continua a 270 µmol phot . m^{-2} . s^{-1}, temperatura constante a 28 °C, y con burbujeo de aire húmedo con 2% de CO_2.

Resultados: La preaclimatación permitió incrementar el rendimiento volumétrico de sacarosa de 78 ± 12 mg . L^{-1}, conseguidos en el cultivo control, a 98 ± 2 mg . L^{-1}. Esta diferencia aumentó sustancialmente en suficiencia de N, alcanzando 228 ± 24 mg . L^{-1}. Por lo tanto, se decidió evaluar el efecto de la concentración de N sobre la acumulación de sacarosa y la posibilidad de coproducir lípidos, ya que aumentaría el rendimiento volumétrico de biocombustibles. Se observó que los niveles más altos de sacarosa se alcanzaron con suficiencia de N y en presencia de NaCl, mientras que los niveles más altos de lípidos se lograron en privación de N (1 o 3 mM $NaNO_3$), independientemente de la concentración de NaCl. Por lo tanto, la hiper acumulación conjunta de sacarosa y lípidos no sería factible. Teniendo en cuenta estos resultados, se evaluó el crecimiento en agua de mar y en suficiencia de N para potenciar la acumulación de sacarosa, alcanzando 10% (p/p), contenido comparable al de la caña de azúcar.

Conclusiones: Los resultados de este trabajo sugieren la posibilidad del uso de agua de mar para la obtención de biomasa rica en sacarosa, un sustrato con aplicabilidad en diversas fermentaciones industriales, entre ellas, la producción de biocombustibles.

JU 217

0484 - PRODUCCIÓN DE BIOETANOL 3G A PARTIR DE LA HIDRÓLISIS DE BIOMASA ALGAL UTILIZANDO CÓCTELES ENZIMÁTICOS DE *TRICHODERMA HARZIANUM*

BADER, Araceli [1] | SÁNCHEZ RIZZA, Lara[2] | CONSOLO, Verónica Fabiana[3] | CURATTI, Leonardo[4]

INBIOTEC-CONICET Y FIBA [1]; INBIOTEC-CONICET Y FIBA [2]; INBIOTEC-CONICET Y FIBA [3]; INBIOTEC-CONICET Y FIBA [4]

Introducción y Objetivos: En los últimos años, la necesidad de reemplazo de los combustibles fósiles ha favorecido la búsqueda de alternativas para explorar otras fuentes de energía. Las microalgas acuáticas son un recurso promisorio para la producción de bioetanol y pueden ser utilizadas como materia prima para la elaboración de productos de alto valor agregado. La ventaja de su uso radica en su gran eficiencia fotosintética y productividad y la independencia de tierras fértiles. Uno de los desafíos para maximizar la producción de bioetanol, es explorar alternativas económicas y prácticas para sustituir total o parcialmente los actuales procesos de pretratamiento de la biomasa. Uno de los métodos más eficientes es la hidrólisis físico-química, sin embargo el uso de grandes volúmenes de ácidos y el alto requerimiento energético incrementan los costos de producción y sobre todo resultan en un alto impacto ambiental. La hidrólisis enzimática puede ser una alternativa económica e inocua pero debe ser mejorada. El objetivo de este trabajo fue generar un cóctel enzimático, a partir de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum*, capaz de hidrolizar y sacarificar biomasa algal.

Materiales y Métodos: Se cultivó el hongo en salvado de trigo y se determinó y optimizó su capacidad de sacarificar biomasa y otras actividades enzimáticas. Se cultivaron las microalgas *Chlamydomonas reinhardtii* cc125 (wt) y cw15 (deficiente en pared celular). Se optimizaron las condiciones de hidrólisis y sacarificación de los carbohidratos de la biomasa de ambas cepas y se determinaron los azúcares fermentables así como la conversión a etanol por fermentación con *Saccharomyces cerevisiae*.

Resultados: Ambas microalgas acumularon carbohidratos totales hasta el 50% de su peso seco, presentando niveles similares de almidón y azúcares solubles. En cambio, la cepa cw15 presentó menos de un tercio del contenido de celulosa. Las mejores condiciones de hidrólisis fueron: 55°C, pH 5 con tiempo de incubación de 0,5 a 24 h. De esta manera se determinó una actividad amilolítica de 0,5 ± 0,2 UA/ml de enzima, definida como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 mol de glucosa por minuto. La actividad proteolítica, celulolítica y amilolítica estimada fue de 20, 110 y 750 ug/ml respectivamente sobre 10 mg/ml/h de incubación. Se determinó un 100% de sacarificación de los carbohidratos de la biomasa de ambas cepas con 0,1 UA de enzima/mg de biomasa. De la sacarificación se obtuvieron jarabes azucarados de hasta 22 g/L que fueron convertidos a etanol por fermentación con una eficiencia mínima del 30%. Contrariamente a lo esperado, no se observaron diferencias significativas en la sacarificación con la cepa deficiente en pared.

Conclusiones: Estos resultados sugieren el potencial de la bioprospección de cepas fúngicas en la producción de un complemento de enzimas hidrolíticas para la sacarificación de sustratos complejos como la biomasa algal, para una diversidad de aplicaciones industriales, tales como la producción de bioetanol de tercera generación (3G).

JU 218

0502 - MODELADO EXPERIMENTAL DE LA PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA ALGAL EN DIFERENTES ECORREGIONES DE SUDAMÉRICA

CORONEL, Camila Denise | CURATTI, Leonardo

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC - CONICET)

Introducción y Objetivos: La biomasa algal presenta un gran potencial como materia prima para la producción de varios bioproductos, entre ellos los biocombustibles. Sin embargo el costo actual de su producción a gran escala está estimado entre 2,8 y 3,7 USD.Lˆ-1, dificultando su implementación y comercialización. La estimación del precio está basada en varios parámetros, entre ellos, las predicciones de productividad que pueden obtenerse a partir de modelados o por extrapolación a partir de sistemas de cultivo a menor escala. Ejemplo de estos sistemas son los fotobiorreactores ambientales (ePBR's), los cuales tienen la capacidad de simular el crecimiento algal en piletas al aire libre mediante la configuración de parámetros ambientales. En este trabajo se simuló el crecimiento de una cepa de microalga en diferentes localidades de Sudamérica y en diferentes condiciones de cultivo con el objeto de determinar cuáles regiones, estaciones y condiciones básicas del cultivo presentan un mayor rendimiento potencial de biomasa algal.

Materiales y Métodos: Se evaluó el crecimiento *Scenedesmus obliquus* cepa C1S en ePBR's, utilizando medio BG11 en suficiencia de nitrógeno bajo parámetros climáticos promedio de cuatro ciudades. Se eligieron por su ubicación geográfica y por sus características climatológicas a Buenos Aires, La Quiaca (Jujuy), Posadas (Misiones) y Fortaleza (Brasil). Para el modelado de productividad en diferentes condiciones de cultivo, se evaluó el efecto de la suplementación con 2% CO_2 en las condiciones ambientales de Fortaleza y Buenos Aires, en invierno o verano. Además, se evaluó el efecto de la profundidad de los sistemas de cultivo (5; 10 y 20 cm) en la ciudad de Fortaleza.

Resultados: Para todas las regiones modeladas, las mayores productividades se obtuvieron en primavera y verano, en concordancia con las mayores temperaturas y valores de irradiancia. Sin embargo, se observaron diferencias en los valores máximos alcanzados en las diferentes regiones. La ciudad de Fortaleza presentó la mayor productividad anual y la menor variabilidad entre estaciones. En la evaluación del efecto de la suplementación con CO_2 sobre la productividad, se observó un incremento de aproximadamente 2.5 veces, independientemente de la estación o la ciudad. En simulaciones de piletas de cultivo de diferentes profundidades, se alcanzaron productividades volumétricas entre 2 y 4 veces mayor en comparación a los 20 cm, considerada como la altura estándar de este sistema de cultivo. Sin embargo, en todos los casos, los valores de productividad aérea oscilaban en 73 $t.ha^{-1}.año^{-1}$, y la aparente ventaja obtenida a menores profundidades se vio contrarrestada por el menor volumen de cultivo .

Conclusiones: Los resultados obtenidos en este trabajo muestran una primera aproximación para la selección de regiones para el cultivo masivo de microalgas en Sudamérica. Fortaleza sería una región potencialmente competitiva para su producción durante todo el año, mientras que Buenos Aires, La Quiaca y Posadas lo serían solo en verano y primavera.

JU 219

0511 - PURIFICACIÓN A ESCALA PILOTO DE UNA ACTIVIDAD LIPASA PRODUCIDA POR *ASPERGILLUS NIGER* MYA 135. CARACTERIZACIÓN CINÉTICA Y MOLECULAR

SALVATIERRA, Hebe Natalia [1] | NAVARRO, Agustín[2] | WOLMAN, Federico[2] | DONAMARÍA, Julián[2] | BAIGORI, Mario[1] | PERA, Licia[1] | VAZQUEZ, Susana[2]

PROIMI [1]; CÁTEDRA DE BIOTECNOLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UBA; NANOBIOTEC UBA-CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Las lipasas (EC 3.1.1.3) son enzimas de gran importancia industrial debido a la heterogeneidad de aplicaciones que presentan en la industria alimenticia, farmacéutica y otras y en la producción de biocombustibles. Cada una de estas aplicaciones requiere propiedades específicas de las lipasas tales como especificidad, estabilidad térmica, habilidad para catalizar la síntesis de ésteres en solventes orgánicos, etc. En tal sentido, este trabajo tiene como objetivo purificar una actividad lipasa a escala piloto y caracterizar el producto obtenido.

Materiales y Métodos: Para esto, se obtuvo 3 l de sobrenadante de cultivo con actividad lipasa a partir de *Aspergillus niger* MYA 135 utilizando un medio salino suplementado con aceite de oliva (2%, v/v). Se optimizó el proceso de purificación. Se propuso un paso de ultrafiltración seguido de cromatografía hidrofóbica por FPLC (Fast protein liquid chromatography).

Resultados: Se logró purificar una proteína con una actividad específica de 13,4 U/mg, con un rendimiento de 6,2% y un factor de purificación de 17,8. La proteína purificada reveló dos bandas en SDS-PAGE. Las mismas fueron analizadas por espectrometría de masa MS y MS/MS, dando como resultado: a) para la banda superior, una identificación en MASCOT con Lipasa Extracelular de *Aspergillus niger*; Masa: 61 kDa; pI: 4,42; Score:

110; Base de datos: NCBIprot y b) para la banda inferior una identificación con Lipasa de *Aspergillus niger* CBS 513.88; Masa: 31,7 kDa; pI: 4,67; Score: 5,8; Base de datos: NCBIprot. Se determinaron: el punto isoeléctrico (3,75), temperatura (30°C) y pH (7.0) óptimos, y los parámetros cinéticos Vmax (19,16 µmol/min) y Km (0,26 mM), utilizando buffer A (buffer fosfato 100 mM pH 7, goma arábiga 0,1% y tritón 0,4%), una temperatura de incubación de 37°C y p-nitrofenil palmitato como sustrato. Además, se estudió el efecto de agentes que modifican aminoácidos (5 mM): NAI (N-acetylimidazole), NBS (N-bromosuccinimide), EDAC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide), IA (idoacetate), DEPC (diethylpyrocarbonate), CA (citraconic anhydride) y PG (phenylglyoxal); y otros compuestos (g/l): $FeCl_3$ 1, $CaCl_2$ 0,5, ácido oleico 1, glicerol 10, aceite de oliva 20 y Tritón X100 20. Se detectó un efecto de inhibición frente a CA, NAI, PG, DEPC, $CaCl_2$y Tritón; mientras que con el agregado de $FeCl_3$ (Ka=0,17mM) y ácido oleico (Ka=0,05mM) se observó un efecto de activación. Finalmente, se realizaron estudios relacionados con la síntesis de biodiesel utilizando la lipasa purificada e inmovilizada en silica gel por adsorción como catalizador, con aceite de soja crudo y butanol en relación (1:4).

Conclusiones: Como resultado, se logró sintetizar biodiesel con éxito, pudiéndose comprobar que esta enzima tiene la capacidad de reaccionar con un sustrato natural y catalizar la transesterificación. Agradecimientos: PICT 2015 2596 (FONCyT) y PIUNT 606 (UNT).

JU 220

0527 - EXOPOLISACÁRIDO PRODUCIDO POR *LACTOBACILLUS FERMENTUM* LF2: OPTIMIZACIÓN ESTADÍSTICA DE LA PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL COMPUESTO OBTENIDO

BATISTELA, Virginia A.[1] | CORREA OLIVAR, Gabriela[1] | ALE, Elisa[1] | FERRADO, Joana Belén[2] | **REINHEIMER, Jorge A.** [1] | VERA CANDIOTI, Luciana[3] | BINETTI, Ana G.[1]

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL/ INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL [1]; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA (UNL) [2]; UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL [3]

Introducción y Objetivos: Algunas bacterias lácticas (BAL) son capaces de producir exopolisacáridos (EPS), moléculas que pueden mejorar las propiedades reológicas de ciertos productos lácteos y a la vez, ejercer efectos benéficos para la salud del consumidor. La cepa autóctona *L. fermentum* Lf2 es capaz de producir 1 g/L de EPS con propiedades tecnológicas y funcionales demostradas, rendimiento elevado en comparación con otras BAL. Por lo tanto, se planteó como objetivo optimizar su producción y realizar su caracterización química a los fines de proponer su aplicación como ingrediente alimentario.

Materiales y Métodos: Se realizó una selección de factores mediante modelos D-Optimal para un medio de cultivo semi-definido (SDM), con el fin de determinar las concentraciones de las fuentes nitrogenadas que optimicen la producción, como así también el tipo de fuente de carbono y el tiempo de fermentación. Luego se realizaron fermentaciones variando el pH (de 5 a 7) y la concentración de sacarosa (1 a 8% m/v) aplicando un modelo central compuesto. Se utilizó 0,53% m/v bacto casitona, 0,63% m/v base nitrogenada de levadura y 0,53% m/v citrato de amonio según las proporciones obtenidas previamente. Las fermentaciones se realizaron en un biofermentador de 2 L Sartorius Biostat A plus a 30°C por 48 h. Se tomaron muestras de 200 mL para realizar recuentos y extraer EPS por precipitación alcohólica. A partir del EPS purificado, se realizó un análisis estructural aplicando espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) 1^H. Además, se determinó el peso molecular, el tamaño de partícula y la carga superficial de la molécula por espectroscopía de dispersión estática (SLS) y dinámica (DLS) de luz.

Resultados: La mayor producción del EPS se obtuvo con 6,25% m/v sacarosa y pH 6,5, logrando un rendimiento de 1,8 ± 0,2 g/L EPS crudo, duplicando el obtenido en condiciones no optimizadas. El recuento celular fue de 8,5 log(UFC/mL). Mediante SLS se determinó que la solución de extracto de EPS presenta un PM promedio de $(2,53 \pm 0,03)10^3$ kDa. El valor del índice de polidispersidad (PdI) fue cercano a 0,4 (por DLS), lo que sugiere una distribución del tamaño de partícula polidispersa, probablemente debido a la presencia de diferentes poblaciones de EPS con distintos tamaños de partícula, y se evidenció la presencia de dos poblaciones principales de EPS con diferentes tamaños. El valor potencial obtenido fue de -18 ± 2 mV (a una concentración de EPS de 0,75 mg/mL), por lo que se puede decir que el EPS tiene una carga neta negativa en una solución de $NaNO_3$ 0,1 M. Finalmente, se analizó el espectro unidimensional 1^H RMN obtenido a 300 MHz. Se observaron 3 resonancias de protones en la región anomérica (d 5,50-4,50 ppm). Los valores de d (desplazamiento químico) obtenidos para las 3 señales sugieren que los protones H^1 corresponden a carbonos anoméricos en configuración alfa. Debido a que el espectro fue obtenido a 293 K, no se pudo inferir sobre la presencia de protones en carbonos en configuración ß.

Conclusiones: Se ha logrado optimizar el rendimiento de EPS de la cepa *L. fermentum* Lf2, duplicando el valor obtenido en condiciones no optimizadas y se pudo dilucidar que está principalmente formado por dos poblaciones de distinto tamaño, presenta carga neta negativa, un PM promedio de $(2,53 \pm 0,03)10^3$kDa y se ha identificado la presencia de carbonos anoméricos alfa en su estructura.

JU 221

0567 - SELECCIÓN DE BACTERIAS LÁCTICAS AISLADAS DE SEUDOCEREALES CAPACES METABOLIZAR RUTINA

VELASCO MANINI, Marina Andrea | SANDEZ PENIDEZ, Sergio Hernán | GEREZ, Carla | ROLLAN, Graciela Celestina

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Los seudocereales (quinoa y amaranto) son importantes fuentes de flavonoides, compuestos polifenólicos con gran potencial bioactivo de mucho interés debido a sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antimutagénicos, antiproliferativos, entre otros. Sin embargo, su biodisponibilidad es especialmente baja cuando se encuentran como rhamnoglucósidos, tal es el caso de la rutina, debido a la falta de rhamnosidasa intestinal en humanos. Las bacterias lácticas (BL) son un grupo de microorganismos GRAM positivos empleado en variados procesos de fermentación de alimentos. Estos microorganismos poseen enzimas o vías metabólicas de importancia en el procesamiento de alimentos que mejoran e incrementan sus valores nutricionales y funcionales. Existe evidencia que rutina y otros flavonoides son capaces de inhibir el crecimiento de BL en medios de cultivo. En previos trabajos se aislaron BL de masas ácidas y granos de quinoa y amaranto. En base a lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue seleccionar BL aisladas de quinoa y amaranto capaces de metabolizar rutina a quercetina durante su crecimiento en un medio de cultivo MRS modificado.

Materiales y Métodos: Las cepas (43) de BL fueron cultivadas en medio MRS reducido en carbohidratos y suplementado con rutina (0,2 mM). Los cultivos se incubaron a 30 ºC en agitación durante 72 h. El crecimiento (UFC/ml) y acidificación (pH) fue evaluado a tiempo inicial y final. Las concentraciones de rutina y quercetina fueron determinadas por cromatografia HPLC-UV.

Resultados: Los resultados demostraron que el 50% de las cepas de BL fueron capaces de crecer con un incremento de 1.2-2.2 unidades log al final de fermentación; sin embargo en algunas se evidenció una entrada en fase de muerte antes de las 72 h. La capacidad de acidificación de las cepas produjo un descenso de los valores de pH de 1.2 unidades. El metabolismo de rutina por ciertas BL, especialmente del género *Leuconostoc*, se evidenció en los cromatogramas de HPLC, observándose una disminución (10%) del área del pico correspondiente al flavonoide y la aparición de un pico de área menor correspondiente a quercetina.

Conclusiones: Este estudio permitió seleccionar cepas de BL aisladas de granos andinos capaces de metabolizar el flavonoide rutina a quercetina en el medio de cultivo. Estos resultados evidencian la importancia de estas BL para su empleo como cultivos iniciadores en el diseño de alimentos derivados de quinoa con mayor valor funcional y aptos para pacientes celíacos.

JU 222

0605 - ANÁLISIS DEL PERFIL SECRETÓMICO DE *TRAMETES VILLOSA* LBM 018 DESARROLLADO EN CULTIVO LÍQUIDO OPTIMIZADO PARA LA PRODUCCIÓN DE LACASAS

SAWOSTJANIK AFANASIUK, Silvana Soledad | GONZALEZ HOLC, Victoria Guadalupe | DIAZ, Gabriela Verónica | ALVARENGA, Adriana Elizabet | ZAPATA, Pedro Darío

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR – INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES – UNIVERSIDAD NACIONAL

Introducción y Objetivos: En la actualidad existe un gran interés en los biocombustibles como alternativa a los combustibles tradicionales. Dentro de los cuales, el bioetanol de segunda generación cobra mayor interés ya que es producido a partir de residuos provenientes de agro-foresto-industrias. Sin embargo, la producción de bioetanol lignocelulósico requiere de una serie de tratamientos previos sobre la biomasa para la degradación de su componente más recalcitrante, la lignina, y para la obtención de azúcares fermentables. Estos pretratamientos encarecen los costos de producción ya que se realizan utilizando químicos y enzimas de alto costo. Los hongos de pudrición blanca presentan una amplia capacidad degradativa, produciendo como parte de su metabolismo un amplio espectro de enzimas oxidativas que actúan sobre la lignina. Es por ello que se planteó como objetivo de este trabajo analizar el perfil secretómico de *Trametes villosa* LBM018, un hongo nativo de Misiones, cultivado en medio líquido optimizado para la producción de enzimas lacasas.

Materiales y Métodos: Primeramente se optimizaron las condiciones de cultivo del hongo, con el fin de obtener altas concentraciones de lacasas en sus sobrenadantes. Para ello se realizaron diseños experimentales que permitieron determinar las mejores condiciones físicas de cultivo, y la composición química del medio. Con los sobrenadantes obtenidos se determinó la actividad enzimática lacasa, que sirvió como estimación de la secreción de enzimas. Una vez lograda la optimización se realizaron cultivos del hongo en la condiciones optimizadas y cultivos controles. Los sobrenadantes obtenidos fueron utilizados para la identificación y análisis del secretoma por espectrometría de masas. Los sobrenadantes fueron filtrados y clarificados y las proteínas presentes en los mismos fueron reducidas, alquiladas, precipitadas y luego digeridas con tripsina. Los péptidos

obtenidos fueron separados y analizados por nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masa con tecnología Orbitrap. Los datos obtenidos fueron analizados con el programa Proteome Discoverer.

Resultados: Por medio de la optimización se logró incrementar la actividad enzimática lacasa 700%, el análisis de secretoma permitió corroborar que este aumento en actividad se debe a un aumento en la secreción de enzimas lacasas, siendo en los controles la abundancia relativa de 7% y en el optimizado 32%. Además se incrementaron otras oxidorreductasas, como las peroxidasas, siendo de 3% en los controles y 22% en el optimizado.

Conclusiones: Se concluye que gracias a la optimización de las condiciones de cultivo de hongos de pudrición blanca, se pueden generar sobrenadantes optimizados en enzimas particulares que puedan ser aplicados sobre residuos lignocelulósicos para producir bioetanol disminuyendo costos en el proceso. Los análisis del secretoma permiten identificar las enzimas secretadas, generando herramientas para diseñar la forma de aplicación adecuada.

JU 223

0281 - EFECTO DE MALTOSA Y LACTOSA COMO AGENTES PROTECTORES DE *STAPHYLOCOCCUS VITULINUS* ACU-10 DURANTE LA LIOFILIZACIÓN Y ALMACENAMIENTO

BOHACEK, Melisa[1] | **GALANTE, Nadia Soledad** [2] | HERMAN, Cristian[1] | SANABRIA, Ernesto[1] | CAYRÉ, María Elisa[1]

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL [1]; CONICET/ LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL [2]

Introducción y Objetivos: Dentro de los métodos de conservación de cultivos microbianos, la liofilización es uno de los más usados ya que permite mantener un alto porcentaje de células viables y preserva las características morfológicas y bioquímicas del cultivo bacteriano. Sin embargo, durante el proceso las células son expuestas a condiciones de stress que pueden conducir a lesiones en la membrana, desnaturalización de proteínas y daños en el ADN. La composición del medio es uno de los factores más importantes en la supervivencia celular durante la liofilización. Ciertas sustancias protectoras, tales como carbohidratos, proteínas y polímeros, pueden ser incorporadas a los medios de congelación para prevenir o reducir los daños. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia de algunos disacáridos como sustancias protectoras sobre la supervivencia de *Staphylococcus vitulinus* ACU-10, microorganismo componente de un cultivo starter autóctono para la producción de salamines.

Materiales y Métodos: Las células se cosecharon por centrifugación a 4°C a partir de un cultivo activo en caldo BHI y se lavaron dos veces con solución fisiológica. Alícuotas del pellet resuspendido en solución fisiológica se dispensaron en agua destilada (control) y soluciones protectoras de lactosa y maltosa en dos concentraciones (5 y 15% p/v). Las suspensiones se congelaron a -80°C por 4 horas y se liofilizaron a -30°C y 10 Pa por 48 horas. El número de células viables se determinó antes, inmediatamente después de la liofilización y a 4 meses de almacenamiento a 5 y 25°C mediante recuento en placa. La tasa de supervivencia (TS) fue expresada como porcentaje de la población inicial. Los análisis se realizaron por duplicado y se usó análisis de varianza para comparar los resultados.

Resultados: Después de la liofilización, la TS fue significativamente más alta en presencia de las sustancias protectoras (53,4±2,8%) que en el control (7,0±2,1%), independientemente del disacárido y la concentración utilizada. Después de 4 meses de almacenamiento la TS disminuyó significativamente en todas las muestras. Sin embargo, el grado de disminución mostró una dependencia del tipo de azúcar, su concentración y, principalmente, la temperatura de almacenamiento. Una drástica disminución de la TS se detectó en todas las muestras almacenadas a 25°C alcanzando valores menores al 0,01%. A 5°C se evidenció un mejor efecto protector de la maltosa. A esta temperatura no se detectó efecto significativo de la concentración de maltosa sobre la TS la cual disminuyó hasta el 31,7±1,5%. Mientras que, en presencia de 5% de lactosa la TS (12,5± 2,0%) fue significativamente más baja que la obtenida a una concentración del 15% (TS= 22,7±1,8%).

Conclusiones: Estos resultados muestran un mejor comportamiento de la maltosa sobre la viabilidad y estabilidad del cultivo conservado por liofilización.

SAMIGE - Fisiología Microbiana

JU 224

0590 - EFECTO DE DOSIS SUBLETALES DE RADIACIÓN UVA EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

PEZZONI, Magdalena [1] | DE TROCH, Marleen[2] | PIZARRO, Ramon A[1] | COSTA, Cristina S[1]

COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA - CENTRO ATÓMICO CONSTITUYENTES [1]; UNIVERSIDAD DE GANTE (GHENT UNIVERSITY, BELGICA) [2]

Introducción y Objetivos: La radiación ultravioleta A (UVA; 315-400 nm) es un importante factor de estrés ambiental que las bacterias deben enfrentar en la naturaleza. Cuando las mismas son expuestas a este tipo de radiación en presencia de oxígeno, se generan especies reactivas (ROS) capaces de generar daño a macromoléculas. *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno oportunista de humanos que también puede ser encontrado en múltiples ambientes, es muy utilizado como modelo de estudio por su versatilidad y capacidad de adaptación a diversos factores de estrés. La membrana de las bacterias juega un rol fundamental en la sobrevida de las mismas creando una barrera entre las células y el medioambiente. Estudios previos han reportado que los ROS son capaces de modificar la composición de los ácidos grasos de las membranas bacterianas, afectando así sus propiedades biofísicas (fluidez, flexibilidad) y, consecuentemente, la eficiencia de las funciones dependientes de las mismas. Con el propósito de analizar posibles adaptaciones a la radiación, se analizó el efecto de dosis subletales de UVA en la composición de los ácidos grasos de membrana en *Pseudomonas aeruginosa*.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron cultivos de la cepa PAO1 crecidos bajo dosis subletales de UVA o en oscuridad (control). En diferentes etapas de cultivo (DO650 0.1, DO650 0.3 y a las 24 h) se tomaron alícuotas que, previa liofilización, se sometieron a un proceso de extracción lípidídica y posterior análisis de ácidos grasos. Este procedimiento fue realizado por el Grupo de Investigación de Biología Marina de la Universidad de Gante (Ghent University, Bélgica)

Resultados: El perfil de ácidos grasos obtenido a partir de células crecidas bajo UVA hasta fase logarítmica temprana (DO650 0.1) no presentó cambios respecto del control: 49 % corresponde a ácidos grasos insaturados y 41 % a ácidos grasos saturados. En extractos de células crecidas bajo UVA hasta fase logarítmica más avanzada (DO650 0.3), se observó un incremento significativo de los ácidos grasos insaturados (53%) respecto del control (49%) ($p< 0.01$). A su vez el tratamiento produjo una disminución de los ácidos grasos saturados (40%) comparando con el control (42,5 %) ($p< 0.01$). Por el contrario, cuando las células fueron expuestas a la radiación UVA durante 24 h no se observaron cambios significativos respecto de los controles en cuanto a los porcentaje de ácidos grasos saturados (44 % UVA, 43% control) e insaturados (46% UVA, 48% control).

Conclusiones: -El crecimiento a bajas dosis de UVA es capaz de modificar el perfil de los ácidos grasos de la membrana de *Pseudomonas aeruginosa*. -La exposición a bajas dosis de UVA incrementa el porcentaje de ácidos grasos insaturados durante la fase logarítmica de crecimiento. -Dado que altas dosis de radiación generan daño a membrana (aumento de rigidez y permeabilidad), un incremento del porcentaje de ácidos grasos insaturados por exposición a dosis subletales sería ventajoso por su capacidad de otorgar mayor fluidez a la misma.

JU 225

0636 - APROXIMACIÓN PROTEÓMICA PARA EL ESTUDIO DEL METABOLISMO DE LOS POLIHIDROXIALCANOATOS EN DISTINTAS CONDICIONES DE CULTIVO EN *PSEUDOMONAS EXTREMAUSTRALIS*: EFECTO DE LA RELACIÓN C/N Y LA AIREACIÓN.

BRITO, María Gabriela | LÓPEZ, Nancy Irene

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET

Introducción y Objetivos: Los polihidroxialcanoatos (PHA) son polímeros de reserva de interés como plásticos biodegradables. Según el monómero que los compone se clasifican en PHA de cadena corta (PHAcc: C3-C5) y de cadena media (PHAcm: C6-C16). Pseudomonas extremaustralis puede sintetizar PHAcc, particularmente polihidroxibutirato (PHB), y PHAcm. El objetivo del trabajo consistió en el análisis del efecto de la relación C/N y de distintas condiciones de aireación en el metabolismo de los PHA en *P. extremaustralis* mediante un enfoque proteómico.

Materiales y Métodos: Los cultivos se realizaron en medio LB y $0.5NE_2$, que favorece la acumulación de PHA, suplementados con octanoato de sodio (O) con relaciones C/N de 3,7 (LB), 4,5 (LBO) y 8,5 (NEO), en distintas fases de crecimiento (exponencial vs. estacionaria) y condiciones de aireación (aerobiosis vs. microaerobiosis). Las células se cosecharon y se sonicaron. Los extractos proteicos se sembraron en geles de poliacrilamida y las proteínas totales se analizaron en un nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masa EASY-nLC 1000 en el CEQUIBIEM (FCEN-UBA). Las proteínas con expresión diferencial se determinaron utilizando el programa Perseus y otras herramientas informáticas. Se compararon los perfiles proteicos en varias condiciones: 1. LBO vs. NEO, fase estacionaria, aerobiosis; 2. NEO, fase exponencial vs estacionaria, aerobiosis; 3. NEO, fase estacionaria, aerobiosis vs. microaerobiosis y 4. LBO vs LB, fase estacionaria, aerobiosis. La producción de PHA se cuantificó por cromatografía gaseosa previa metanólisis.

Resultados: Se identificaron entre 1.100 y 1.350 proteínas. El análisis de la expresión diferencial entre condiciones permitió detectar cambios en proteínas involucradas en el metabolismo de los PHA y otras vías relacionadas. Se identificaron alrededor de 200 proteínas con expresión diferencial (sobre-expresadas + reprimidas) en todas las condiciones. En la condición 1 entre las significativamente sobre-expresadas en LBO, se destacan la sintasa de PHB (PhbC), la acetil-CoA acetiltransferasa y la 3-cetoacil-ACP reductasa mientras que las proteínas asociadas a la síntesis de los PHAcm se encontraron reprimidas en LBO. En la condición 2, en fase exponencial no se detectaron proteínas relacionadas con la síntesis de PHA. En la condición 3 en aerobiosis se encontraron diferencialmente sobre-expresadas PhbX, PhaP, PhaF relacionadas con la síntesis de PHAcc, además de una enoil acil-reductasa. En la condición 4 se encontraron sobre-expresadas en LBO a PhbX, PhbC, Pta, como también la 3-cetoacil-CoA tiolasa y la PhaP.

Conclusiones: El aumento en la relación C/N incrementó la expresión de las proteínas involucradas en la producción de PHAcm. Los niveles de expresión fueron mayores en fase de crecimiento estacionario y aerobiosis para ambos tipos de polímeros. Se observaron pocas proteínas relacionadas con la producción de PHA en microaerobiosis respecto de aerobiosis.

JU 226

0665 - ESTUDIO PRELIMINAR DEL ROL DEL HIERRO EN LA PATOFISIOLOGIA DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICA O157:H7

MARQUES DA SILVA, Wanderson | RIVIERE, Nahuel | LARZABAL, Mariano | CATALDI, Angel

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, INTA-CONICET

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 es un patógeno zoonótico responsable de la colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico en humanos. Durante el proceso de infección este patógeno es sometido a diferentes condiciones de estrés, como por ejemplo el estrés nutricional relacionado con la escasez del hierro. Estudios han demostrado que el hierro es requerido para el crecimiento bacteriano y su biodisponibilidad juega un rol importante en la patogénesis de diferentes patógenos. Diferentes sistemas específicos de adquisición de hierro ya fueron caracterizados en EHEC, sin embargo pocos estudios fueron realizados para evaluar como la biodisponibilidad de este metal podría influir en su fisiología y patogénesis. El principal objetivo de este trabajo es evaluar el rol del hierro tanto en la fisiología como en procesos que contribuyan en la patogénesis de EHEC O157:H7.

Materiales y Métodos: En este estudió se utilizó la cepa EHEC O157:H7 Rafaela II aislado de un bovino en Argentina la cual fue previamente secuenciado su genoma. La bacteria fue cultivada en medio DMEM suplementado con hemina (10 µM) o DMEM contiendo el agente quelante de hierro 2'2-bipyridyl (BPD) (130 µM), a 37 °C, 200 rpm. Curvas de crecimiento bacteriano fueron hechas para evaluar como las diferentes condiciones influencian en el crecimiento de EHEC. Para evaluar la formación de biofilm, adhesión celular y motilidad celular se utilizaron los ensayos de micro placa, adhesion en células epiteliales CACO-2 y soft agar (0.3%), respectivamente. La actividad del sistema de secreción de tipo 3 (SST3) fue evaluada a través de ensayos de lisis de glóbulos rojos a partir de eritrocitos ovinos y mediante la técnica de western blotting.

Resultados: A través del análisis de las curvas de crecimiento bacteriano fue posible demonstrar que la adición de hemina al medio de cultivo incrementó el crecimiento de EHEC, sin embargo, la presencia del quelante de hierro BPD disminuyó su crecimiento. Cuando evaluamos la formación de biofilm bacteriano, adhesión celular en células CACO-2 y motilidad celular, se observó una menor formación en la capacidad de formar biofilm y diminución tanto en el proceso de adhesión como en la motilidad celular cuando la cepa fue cultivada en el medio DMEM suplementado con hemina respecto a la cepa cultivada en DMEM con BPD. Finalmente, se evaluó la actividad del SST3 de EHEC en respuesta a biodisponibilidad de hierro. En el ensayo de lisis de glóbulos rojos demostramos que la actividad hemolítica del SST3 se incrementó en presencia de hemina. Además fue posible detectar mediante western blotting que la proteína efectora EspA fue más expresada cuando EHEC fue cultivada en presencia de hemina.

Conclusiones: A través de estos ensayos preliminares es posible demonstrar que el hierro ejerce un rol en algunos procesos relacionados tanto en la fisiología cuanto en la patogénesis de EHEC O157:H7.

JU 227

0425 - ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIBIOFILM DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOSINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE *BOTHRIOCHLOA LAGUROIDES* CONTRA CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

TORANZO, Araceli [1] | PAEZ, Paulina[2] | LUCERO ESTRADA, Cecilia[3]

IMIBIO - CONICET [1]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET [2]; ÁREA DE MICROBIOLOGÍA. FQBYF. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS / IMIBIO - CONICET [3]

Introducción y Objetivos: *Staphylococcus aureus* es una bacteria anaerobia facultativa que se encuentra colonizando la piel y las mucosas de los seres humanos. Causa diversas afecciones que van desde infecciones cutáneas hasta otras más graves que pueden ser letales, es el principal causante de infecciones nosocomiales. *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) es de gran preocupación debido a su alta mortalidad luego del fracaso del tratamiento, aunque el término resistencia a meticilina incluye resistencia a derivados ß-lactámicos, las cepas SARM presentan, en general, resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos, por lo cual la resistencia antimicrobiana de este patógeno constituye un desafío terapéutico importante. Los objetivos de este trabajo fueron determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) de las nanopartículas de plata (NPsAg) en células planctónicas, como así también determinar si estas NPsAg son capaces de erradicar el biofilm o de inhibir su formación en cepas de *S. aureus*.

Materiales y Métodos: Se utilizaron dos cepas: *S. aureus* meticilino sensible ATCC 29213 y *S. aureus* meticilino resistente ATCC 43300. La CIM y CBM se determinaron mediante la técnica de microdilución en caldo de acuerdo con las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). La CIM del biofilm (CIMB) se determinó mediante la técnica de cristal violeta (CV) en caldo tripticasa soja suplementado con 0,25% glucosa (CTSG). Se realizaron diluciones seriadas 1/2 de NPsAg en placas de 96 pocillos de poliestireno (PE) y se añadió el inóculo a una DO_{610} de 0,05 en un volumen final de 200 µl. Se incubo durante 24h a 25°C. Para determinar la concentración mínima de erradicación del biofilm (CEMB), primero se preparó el inóculo como en CIMB y se incubaron 100 µl en un pocillo de placas PE a 25°C durante 24 h, luego se descartó el sobrenadante y se agregaron las diluciones seriadas a ½ de las NPsAg, se llevó a incubar nuevamente a 25°C por 24 h y luego de ese tiempo se procedió a revelar con CV.

Resultados: Los valores de CIM correspondieron a las diluciones 1/32 para *S. aureus* ATCC 43300 y 1/64 para *S. aureus* ATCC 29213; mientras que los valores de CBM corrspondieron a 1/16 y 1/32, respectivamente. La CIMB se obtuvo en la dilución 1/16 para las dos cepas estudiadas. No se logró erradicar el biofilm de ninguna de las dos cepas a las concentraciones estudiadas.

Conclusiones: Las NPsAg fueron efectivas tanto para tratar las células planctónicas como sésiles de las cepas de *S. aureus*, pero se necesitó una mayor concentración tanto para inhibir el crecimiento de la cepa resistente a la meticilina como para matarla. Por otro lado no hubo diferencia en la concentración de NPsAg necesaria para inhibir la formación de biofilm en ambas cepas. No se observó una erradicación del biofilm frente al tratamiento con NPsAg Estos resultados sugieren que las NPsAg podrían usarse en un futuro para prevenir la formación del biofilm de este patógeno.

JU 228

0893 - CARACTERIZACIÓN DE BIOFILMS PRODUCIDOS POR AISLAMIENTOS DE *BURKHOLDERIA CONTAMINANS* RECUPERADOS AL INICIO Y EN EL TRANSCURSO DE LA INFECCIÓN PULMONAR CRÓNICA EN PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

LEÓN, Laura Beltina[1] | **MASSON, Candela** [1] | FIGOLI, Cecilia Beatriz[1] | CARRILLO, Emanuel[2] | BOSCH, Alejandra[1] | YANTORNO, Osvaldo[1]

CINDEFI, CONICET-CCT LA PLATA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, UNLP [1]; SÃO CARLOS INSTITUTE OF CHEMISTRY, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO [2]

Introducción y Objetivos: *Burkholderia contaminans* es la especie del Complejo *Burkholderia cepacia* (cBc) de mayor prevalencia en pacientes con fibrosis quística (FQ) de nuestra región. La colonización de las vías aéreas por estos organismos deriva en procesos pulmonares crónicos, que raramente pueden ser erradicados por el sistema inmune del hospedador o tratamientos con antimicrobianos. Las estrategias adaptativas desarrolladas por esta especie que llevan a su establecimiento y persistencia en los pulmones de estos pacientes aún no se han dilucidado. La formación de biofilms podría tener un rol importante como estrategia de protección bacteriana frente a las condiciones de estrés descritas. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la adhesión y formación de biofilms por aislados clínicos de *B. contaminans*, obtenidos consecutivamente a lo largo de la infección pulmonar crónica en dos pacientes con FQ. Se buscó establecer si las fuerzas físicas generadas por el shear stress, en condiciones similares al tracto respiratorio, afectan las características estructurales de estos biofilms.

Materiales y Métodos: Se emplearon el primer y último aislado disponibles de dos pacientes con fibrosis quística con infección pulmonar crónica. En cada paciente se aislaron uno de los dos linajes de *B. contaminas* (según el perfil de MLST), de mayor circulación local (ST102 y ST872). Se emplearon como controles las cepas de referencia B. cenocepacia J2315 y *B. contaminans* LMG 23361. Se estudió la adhesión y formación de biofilms maduros en sistemas de cultivo estático y bajo flujo continuo de nutrientes empleando cámaras convencionales (5 x 8 mm) y micro-dispositivos (0.1 x 1.0 mm) que permiten el desarrollo de biofilms bajo condiciones que simulan el ambiente de las vías aéreas del pulmón (esfuerzo de corte=0.45 din/cm2). Los

biofilms obtenidos fueron analizados por microscopía de Fluorescencia (MF) y Microscopía Laser Confocal (CLSM), y su arquitectura fue parametrizada a través del software Comstat 2.

Resultados: La capacidad de formación de biofilms y la arquitectura de los biofilms formados fue significativamente diferente para los dos distintos linajes de *B. contaminans*: mientras que los aislamientos ST102 fueron débiles formadores de biofilm, los aislados ST872 desarrollaron biofilms con un espesor promedio 3 veces mayor. A su vez los biofilms formados por aislamientos del mismo linaje para un mismo paciente mostraron variaciones estructurales asociadas al espesor y la rugosidad. Por otro lado, los biofilms formados en cámaras de microfluídica muestran que las condiciones de crecimiento tienen una gran influencia en la arquitectura de los biofilms (altura promedio, altura máxima y rugosidad).

Conclusiones: Estos resultados demostrarían que durante el transcurso de la infección crónica la arquitectura de los biofilms, que es dependiente del linaje, podría modificarse como estrategia adaptativa a la presencia de agentes antimicrobianos y a las condiciones de estrés de las vías aéreas del hospedador.

JU 229

1026 - EVALUACIÓN DE CAMBIOS EN PROPIEDADES NANO-MECÁNICAS DE LA SUPERFICIE BACTERIANA POR LA ACCIÓN DE ANTIMICROBIANOS MEDIANTE MICROSCOPÍA DE FUERZA ATÓMICA

VILLALBA, María Inés[1] | **MASSON, Candela** [1] | STUPAR, Petar[2] | KASAS, Sandor[3] | VELA, María Elena[4] | YANTORNO, Osvaldo Miguel[1]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CINDEFI-UNLP) [1]; ECOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE [2]; ËCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE [3]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FISICOQUÍMICAS TEÓRICAS Y APLICADAS (CONICET-UNLP) [4]

Introducción y Objetivos: Las células microbianas interaccionan y responden a su entorno fisicoquímico utilizando sus componentes de superficie. Comprender entonces las propiedades biofísicas de las moléculas de la superficie celular es un tema de investigación importante. En este sentido, la microscopía de fuerza atómica (MFA) se ha convertido en una herramienta poderosa en microbiología por su capacidad para analizar células microbianas vivas en resolución nanométrica y manipular moléculas de superficie celulares. En este trabajo utilizando técnicas de MFA estudiamos el efecto de la presencia de antibióticos sobre propiedades nano-mecánicas de la cubierta celular empleando Bordetella pertussis como modelo de estudio.

Materiales y Métodos: Se emplearon la cepa de referencia B. pertussis Tohama I en fase virulenta y un mutante avirulento (B. pertussis 537), los cuales fueron cultivados en medio Stainer- Scholte. Para los análisis por MFA se emplearon cantilevers de nitruro de silicio (Si3Ni4) con constantes de resorte típicas de 0.06 o 0.12 N m-; 1. Una suspensión bacteriana de alta densidad (OD595: 0.5) fue inmovilizada sobre cubreobjetos previamente tratados con 10 µ;L de glutaraldehído al 0,5% durante 10 min, enjuagados con agua ultrapura, y secados. Las bacterias fueron expuestas a eritromicina y ampicilina en concentraciones bactericidas durante 5 hs. Las interacciones entre la punta de cantilevers y las células bacterianas se analizaron a través de imágenes de fuerza-volumen (FV) utilizando un microscopio de sonda de barrido MultiMode (Bruker, Santa Barbara, CA, EE. UU.) equipado con un controlador Nanoscope V y un Nano Wizard IIIBioscope (JPK, Berlín, Alemania). La rigidez de cubierta se determinó en distintos puntos en células aisladas y agregados celulares mediante el Módulo de Young (E).

Resultados: El análisis de las propiedades nano-mecánicas de la cubierta celular luego de 5 h de exposición a los antimicrobianos mostró una disminución tanto en la altura como en la rigidez de la cubierta celular de B. pertussis Tohama I para ambos antibióticos. Se registraron además cambios en rugosidad y turgencia celular, los cuales fueron más importantes para ampicilina. Llamativamente, la rigidez de membrana evaluada el módulo de Young y la rugosidad no fueron afectadas significativamente en el mutante avirulento, con ninguno de los dos antibióticos. Estos resultados refuerzan reportes previos en B. pertussis extendidos a B. bronchiseptica, que relacionan la resistencia a macrólidos con la perdida de virulencia. El efecto de antimicrobianos sobre características de cubierta como la rigidez fue menor cuando las bacterias están "conectadas" en agregados bacterianos respecto a las bacterias aisladas.

Conclusiones: Este trabajo muestra la potencialidad que posee la MFA como herramienta poderosa para avanzar en el conocimiento de los efectos de diferentes agentes antimicrobianos sobre la superficie celular a nivel de nano-escala.

SAMIGE - Interacción Procariota- Eucariota

JU 230

0416 - ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE TOXINA SHIGA 2 MEDIADA POR CÉLULAS MIELOIDES INFECTADAS POR CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICAS (EHEC)

BRUBALLA, Andrea [1] | SHIROMIZU, Carolina Maiumi[1] | SABBIONE, Florencia[1] | PINEDA, Gonzalo[1] | BERNAL, Alan Mauro[1] | BOUVIER, León[2] | FERNÁNDEZ-BRANDO, Romina[1] | RAMOS, Maria[1] | TREVANI, Analía[1] | MUÑOZ, Manuel[3] | PALERMO, Marina[1]

INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL CONICET - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS - INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CHASCOMÚS (IIB-INTECH) [2]; INSTITUTO DE FISIOLOGÍA, BIOLOGÍA MOLECULAR Y NEUROCIENCIAS (IFIBYNE-UBA-CONICET) [3]

Introducción y Objetivos: Las cepas enterohemorrágicas de *Escherichia coli* (EHEC), son patógenos transmitidos por los alimentos capaces de colonizar el intestino de los humanos y causar síndrome urémico hemolítico (SUH). La toxina Shiga (Stx) es el factor de las EHEC, y es codificado por un bacteriófago lisogénico incorporado al DNA bacteriano. Se compone de una subunidad A enzimáticamente activa (sub A) y una subunidad B pentamérica. La cepa O157:H7 (O157), que expresa la variante 2 de la Stx (Stx2), es una de las cepas más asociadas a esta enfermedad. Habiendo detectado la presencia de putativos promotores eucariotas en el gen de Stx2 y sabiendo que, estas bacterias se asocian a las placas de Peyer del intestino, nuestro objetivo fue estudiar la interacción de la cepa O157 con macrófagos para evaluar si es posible, en el contexto de la infección, la expresión de la toxina mediada por estas células eucariotas.

Materiales y Métodos: Con este fin, la línea celular macrofágica humana, THP-1, fue infectada utilizando distintas cepas, a saber: i) cepa O157 aislada de paciente, ii) la misma cepa pero sin expresión de toxina (*stx2*$^{-}$), iii) con la cepa no patógena C600 y iv) con una C600 lisogenizada con el bacteriófago 933W (933W), productor de Stx2. Se evaluó la viabilidad celular mediante ensayos de MTT y la internalización de las bacterias mediante recuento de UFC. En los sobrenadantes (SN), se determinó la presencia de Stx2 mediante ensayo de citotoxicidad en células VERO y de IL-1b por ELISA. A su vez, se evaluó la presencia de transcripto de sub A mediante qPCR con primers específicos utilizando como molde, en paralelo, cDNAs sintetizados con oligo-dT (OdT), random primers (RAN) ó en ausencia de primer como control (C).

Resultados: Se observó una disminución significativa de la viabilidad celular a partir de las 24h sólo en los macrófagos infectados con las bacterias capaces de expresar Stx2 (O157: 52%*, *stx2*$^{-}$: 125%, C600: 132%, 933W: 61%*; *p<0.05, ANOVA). El recuento de bacteria internalizada, a las 2h, no mostró diferencias significativas entre cepas. Mientras que la producción de IL-1b por los macrófagos infectados con O157 se observa hasta las 24h, en los infectados por *stx2*$^{-}$ continúa hasta las 48h (O157: 480±191* / 171±139 pg/mL; *stx2*$^{-}$: 601* / 768±272* pg/mL; 24h y 48h respectivamente; *p<0.05, ANOVA). La mayor concentración de Stx2 se observó a las 24h (106±78* pg/mL; *p<0.0001, ANOVA) y se detectó transcripto de sub A 24h post-infección (Fold change, OdT: 1.97±0.14, RAN: 2.31±0.59* y C: 1±0.03; *p<0.05, ANOVA), pero no a las 48h.

Conclusiones: Podemos concluir que la fagocitosis de bacterias productoras de Stx2 induce muerte macrofágica. Se pudo detectar la máxima concentración de Stx2 a las 24h, y transcripto de la subunidad enzimática hasta las 24h, tanto con RAN como con OdT. Paralelamente, se induce la producción de IL-1b independientemente de Stx2. De esta forma, la producción en simultáneo de Stx2 y de IL-1b por los macrófagos podría contribuir a la patogenicidad.

JU 231

0419 - ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DE *STENOTROPHOMONA MALTOPHILIA* AISLADA DEL INTESTINO DE *ANTICARSIA GEMMATALIS*

GALELLI, Mirta Esther | MIYAZAKI, Silvia Susana

ÁREA DE AGROALIMENTOS, FACULTAD DE AGRONOMÍA, UBA

Introducción y Objetivos: En los últimos años se enfatizó el estudio de la importancia de la flora microbiana intestinal y sus posibles efectos sobre los insectos. La alimentación y las condiciones fisiológicas de los insectos pueden variar la flora microbiana intestinal. El cambio climático está causando un aumento de la temperatura global, incrementando las zonas de cultivo afectadas por plagas. Los insectos no regulan su temperatura interna, por lo que el cambio climático podría favorecer el crecimiento de la microflora intestinal, acentuando la relevancia del estudio del efecto de la flora microbiana intestinal en el desarrollo del insecto. Las larvas del Lepidóptero *Anticarsia gemmatalis* consumen hojas y/o perforan las vainas de la soja (*Glycine max*), destruyendo uno de los cultivos más importantes de la Argentina. *Stenotrophomonas maltophilia* es un bacilo Gram negativo ampliamente distribuido en el medio ambiente. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las propiedades de las proteasas de *S. maltophilia* aislada del intestino de *Anticarsia gemmatalis*.

Materiales y Métodos: La bacteria se aisló de intestinos del quinto estadio de *Anticarsia gemmatalis* alimentada con dieta INTA. Se identificó con API 20NE. El crecimiento se estudió en medios nitrogenados complejos agarizados: 5 % de: caseína; caseinato de calcio; harina, proteína y tripteína de soja, peptona de carne y 12% de gelatina. Los aminoácidos se determinaron por cromatografía en capa delgada. Se realizaron antibiogramas. El amoníaco se determinó por microdifusión (adsorbente: $MgCl_2$). La actividad proteolítica se determinó con azocaseína. Se estudió el efecto del inhibidor de proteasas de Kunitz (0,3; 1,5 y 3 µM). Las electroforesis fueron PAGE 8 % y los zimogramas con caseína copolimerizada (1 mg/ml). Se tiñó con Coomassie blue. El efecto del inhibidor de proteasas PMSF se determinó usando zimogramas.

Resultados: *S. maltophilia* aislada fue capaz de crecer en medios nitrogenados complejos, alcalinizándolos. Los aminoácidos liberados dependieron del medio. La actividad proteolítica sobre azocaseína fue máxima a las 46 h de cultivo (10,8 U/DO_{660}), liberando amoníaco (0,3 $\mu g/DO_{660}$). Fue sensible a estreptomicina, pero no a cefalexina, ampicilina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina y penicilina. El efecto del inhibidor de Kunitz en medio líquido con caseína fue una disminución del crecimiento en un 50 % a las 18 h de cultivo, a tiempos mayores su efecto fue menor; esto podría ser debido a la síntesis de proteasas no inhibidas por Kunitz. Con zimogramas de los intestinos de Anticarsia y de un cultivo de *S. maltophilia* se observó un patrón similar de actividad proteolítica a altos pesos moleculares, mayores a 140 kDa. Las bandas proteolíticas bacterianas fueron inhibidas por PMSF, sugiriendo proteasas del tipo serina.

Conclusiones: *S. maltophilia* por su actividad proteolítica y su capacidad de colonizar los intestinos de *Anticarsia gemmatalis* podría incrementar el metabolismo proteico intestinal de las larvas, favoreciendo su crecimiento.

SAMIGE - Microbiología ambiental y del suelo, Biodiversidad

JU 232

0363 - ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS MICROBIANAS DEGRADADORAS DE RESTOS VEGETALES: EFECTO DEL LABOREO EN LA DETRITÓSFERA DE SUELO DE VIÑEDOS

MEDINA, Emilce Mariel | **NAVAS KALUZA, María Daniela** | PAROLDI, Héctor Emilio | VÁZQUEZ, Fabio

IBT FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ

Introducción y Objetivos: Para la evaluación de la calidad de suelos agrícolas, se han propuesto diferentes indicadores que aportan información acerca del estado de los suelos. Las enzimas extracelulares como las xilanasas, celulasas y amilasas, que intervienen en el ciclo del carbono, se emplean como indicadores biológicos de la calidad del suelo, debido a que están estrechamente relacionadas con la actividad microbiana o biomasa edáfica, son sensibles al estrés ambiental y responden rápidamente a los cambios en el manejo de la tierra. Por estos motivos, se las emplea para monitorear el estado de los agroecosistemas vitícolas y evaluar productividad. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de diferentes sistemas de manejo agrícola del cultivo de Vitis vinifera L., labranza mínima (LMín) y convencional (LConv), sobre las actividades de las enzimas celulasas (Ce), xilanasas (Xi) y amilasas (Am) y el contenido de materia orgánica del suelo (MOS).

Materiales y Métodos: El diseño de muestreo fue en bloques al azar con 6 repeticiones. Se tomaron muestras de suelo de cultivo de *Vitis vinífera* L. de los primeros 10cm de profundidad; en los meses de abril y noviembre correspondientes a los años 2013 y 2014. Las muestras se tomaron en micrositios: 6 filas (F) y 6 interfilas (IF) del cultivo en dos sistemas de manejo agrícola: LConv, en la que se utiliza agroquímicos y se aplica labranza tradicional; y LMín, donde también se usan agroquímicos, aunque prácticamente no ocurre la remoción del suelo. De cada una de las F e IF se tomaron 6 submuestras, y se homogeneizaron posteriormente para ser analizadas en laboratorio. La MOS se determinó mediante el método de digestión húmeda de Walkley y Black y las actividades de las enzimas Ce, Am y Xi, mediante la técnica colorimétrica de DNS. El procesamiento de los datos se llevó a cabo a partir de un análisis de componentes principales (ACP).

Resultados: El ACP muestra que la componente principal 1, explica el 75% de la variabilidad entre los micrositios estudiados. Las variables Xi, Ce y Am registraron pesos negativos; mientras que la MOS presentó valor positivo. La componente principal 2, explica el 20% de la variabiliad del sistema. La MOS y las actividades de las enzimas Am y Xi recibieron pesos negativos; mientras que las Ce presentaron peso positivo. El contenido de MOS se asoció a los suelos del manejo del viñedo con LConv (F e IF). Las actividades de las enzimas Am y Xi se asociaron en mayor medida a los suelos de las F del sistema de manejo con LMín, mientras que la actividad de las Ce, se asoció mayormente a los suelos de las IF del sistema antes mencionado.

Conclusiones: Los resultados pondrían en evidencia que, pese a que los mayores niveles de MOS se registraron en los suelos del manejo con LConv, no se vio favorecido el incremento de la actividad enzimática. Por otra parte, los mayores valores de actividad de las enzimas Am, Ce y Xi en los suelos de viñedo con LMín, estarían indicando un efecto positivo de la no remoción del suelo sobre la microbiota edáfica.

JU 233

0413 - ¿CUÁLES SON LOS MARCADORES GÉNICOS MÁS ROBUSTOS PARA LA ASIGNACIÓN TAXONÓMICA DE AISLAMIENTOS DEL GÉNERO PSEUDOMONAS?

MUZLERA, Andrés [1] | GARAVAGLIA, Matias[2] | VALVERDE, Claudio[1]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES [1]; INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE HURLINGHAM [2]

Introducción y Objetivos: Desde los años 80, la secuencia del ARN y del ADN ribosomal son utilizados como estándar para evaluar diversidad microbiana y clasificar las bacterias en especies. Esta elección se basa en su distribución ubicua y su baja tasa evolutiva, lo que permite realizar comparaciones entre bacterias muy divergentes (Busse, et. al. 1996. doi: 10.1016/0168-1656(96)01379-x). Además, los dominios altamente conservados del ADN ribosomal permiten el diseño de *PRIMERS* capaces de amplificar una gran variedad de secuencias tanto de eubacterias como de arqueas. Pero, a pesar de estas ventajas, la información que proporcionan no es suficiente para diferenciar bacterias muy emparentadas filogenéticamente (Santos, et. al. 2004. doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00617.x). Además, como el 16S rDNA no codifica ninguna proteína, las inserciones y deleciones pueden introducir problemas en el momento de alinear secuencias. Por otro lado, la selección evolutiva de una secuencia que determina una estructura secundaria en el ARN puede causar convergencia y saturación distorsionando el análisis. Teniendo en cuenta esto, se han propuesto distintos genes codificantes como marcadores filogenéticos para el género *PSEUDOMONAS*, aunque para su elección solo se tomaron en cuenta 3 factores: que sean codificantes, que estén conservados y que se puedan diseñar *PRIMERS* (Mulet, et. al. 2010. doi: 10.1111/j.1462-2920.2010.02181.x). En este trabajo planteamos la identificación de aquellos marcadores filogenéticos para el género *PSEUDOMONAS*, que otorguen mayor capacidad de discriminación de especies de acuerdo a, principalmente, su calidad de contenido informativo.

Materiales y Métodos: Este trabajo se desarrolló en 4 etapas: 1. Generación y depuración de la base de datos con 215 genomas completos anotados a partir de www.pseudomonas.com; 2. Búsqueda de genes conservados ("core genes"); 3. Análisis de calidad informativa de los genes y sus regiones; 4. Diseño de *PRIMERS* y generación de concatenados para un análisis multilocus de secuencia (MLSA).

Resultados: Para definir los *CORE GENES* se establecieron los siguientes requisitos: 1. Que los genes posean un alto grado de similitud a nivel de secuencia y un porcentaje de identidad mayor a 60%; 2. Ser genes de simple copia. En base a esto se encontraron 52 *CORE GENES* en nuestra base de datos. Para analizar su calidad informativa se generaron fragmentos de 1000pb con corrimientos de 50pb sobre cada gen. Por cada fragmento se realizó una Correlación de matrices de Mantel, Correlación de topologías de árboles de distancias de Robinson-Foulds y Correlación de topologías de clúster. Se generó un ranking comparando la distancia euclidiana en cuatro dimensiones de cada valor de correlación contra el valor de correlación de un concatenado de los 52 genes conservados (MLSA52) y contra un análisis del índice de nucleótidos promedio (ANI) de cada genoma correspondiente. Una vez obtenidos los fragmentos con mejor score (menor distancia contra MLSA52 y ANI) se diseñaron *PRIMERS* para amplificar dichas secuencias *IN SILICO*. Finalmente se generaron todos los posibles concatenados de a tres amplicones y se repitió la comparación de sus valores de correlación contra MLSA52 y ANI.

Conclusiones: Los concatenados compuestos por amplicones de los genes *SPOVR* (proteína conservada no caracterizada), *PEPN* (aminopeptidasa N), *GLTB*(subunidad mayor de glutamato sintasa) y *UVRA* (subunidad A de excinucleasa ABS) presentan los mejores scores postulándose como los ideales para una asignación filogenética robusta de especies dentro del género *PSEUDOMONAS*.

JU 234

0552 - *EXIGUOBACTERIUM SP*. S56A: PROMOTORA DE CRECIMIENTO VEGETAL Y POTENCIAL AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO

NIEVA MURATORE, Luciana | SANTOS, Ana Paula | FARÍAS, María Eugenia | BELFIORE, Carolina

PROIMI

Introducción y Objetivos: El hongo *Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid* es un patógeno expandido mundialmente, con más de 500 especies de plantas hospedantes. Infecta, entre otros hospedantes de importancia agrícola, al sorgo, algodón, maní y soja causando en esta última, la enfermedad conocida como "podredumbre carbonosa". Esta enfermedad se la observa todos los años en las zonas sojeras de la Argentina, con una incidencia y severidad relacionadas directamente a períodos de estrés hídrico y térmico. El patógeno infecta tanto plantas jóvenes como adultas, produciendo en tallos y raíces; al principio lesiones negras y posteriormente manchas extensas de color gris blanquecino, en donde se localizan las estructuras reproductivas del patógeno (esclerocios y picnidios).

Materiales y Métodos: Se realizaron pruebas bioquímicas siguiendo protocolos descriptos en la bibliografía y pruebas de antagonismo frente a *Macrophomina phaseolina* mediante el Método de cultivo Dual. La microscopia electrónica se llevó a cabo en el CISME - CONICET

Resultados: Los resultados mostraron que nuestro aislamiento es capaz de inhibir a las tres cepas de *Macrophomina phaseolina* evaluadas, en un 25% aproximadamente. Se pudo observar que es capaz de producir sustancias con efecto antibiótico difusibles pero no volátiles. Observaciones con microscopía electrónica muestra el daño ocasionado en las hifas de las cepas ensayadas. Por otro lado, los métodos cualitativos realizados demostraron que *Exiguobacterium sp*. S56a produce enzimas degradadoras de la pared celular de hongos como glucanasas y proteasas. Además resultó productora de sideróforos y catalasa, aunque resultó negativa para la producción de HCN y ácidos orgánicos. *Exiguobacterium* es capaz de fijar nitrógeno, solubilizar fósforo, producir catalasa y ácido indol acético. Las semillas inoculadas disminuyen el tiempo de germinación comparadas con las semillas control (sin inocular).

Conclusiones: Estos resultados alientan a continuar estudiando el uso de *Exiguobacterium* como alternativa para la formulación de un bioinoculante.

JU 235

0569 - INOCULANTES MICROBIANOS: MARCAJE GÉNICO DE UNA CEPA COMERCIAL BASADA EN *PSEUDOMONAS* SP. 1008 PARA ANALIZAR SU PERMANENCIA EN MUESTRAS DE SUELO

MORELLATO, Agustín Ezequiel [1] | WALL, Luis[2] | AGARAS, Betina[2]

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES [1]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Los efectos benéficos de los inoculantes microbianos probióticos sobre plantas son conocidos, pero aún no se ha estudiado en detalle sus dinámicas de crecimiento, persistencia y efectos microambientales en el suelo. El inoculante Rizofos® (Rizobacter Argentina S.A.) está basado en la cepa *Pseudomonas* sp. 1008 y se comercializa para favorecer la disponibilidad de fósforo en gramíneas. Con este producto como modelo, nos propusimos obtener una variante marcada y caracterizarla fenotípicamente para realizar ensayos en invernáculo y analizar su trazabilidad en distintas porciones del sistema suelo-raíz.

Materiales y Métodos: En la caracterización fenotípica, se cuantificaron *in vitro* la producción de fosfolipasas (agar yema de huevo, AYH), exoproteasas (agar leche, AL) y la solubilización de fosfatos inorgánicos (agar NBRIP), y se evaluó la producción de ácido cianhídrico (HCN) y la susceptibilidad a los antibióticos kanamicina, gentamicina y cloranfenicol. La variante marcada (1008-VM) se obtuvo por conjugación tetraparental (Lambertsen *et al.* 2004, doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00605.x), incorporando un *cassette* que expresa la proteína fluorescente YFP y resistencias a estreptomicina (Str) y kanamicina (Km). Se realizó un ensayo en invernáculo en macetas de 1l con mezcla suelo:perlita, plantas de trigo y 1 mes de duración. Los tratamientos fueron 4: A) trigo sin inoculación; B) trigo inoculado en semilla; C) trigo inoculado en sustrato; D) sin planta, sustrato inoculado. El seguimiento de 1008-VM en las muestras de raíces, suelo rizosférico (SR) y suelo libre (SL) se hizo mediante recuentos en placa en medio selectivo Gould's S1 con $Str^{1}00$ y $Km^{5}0$. Además, se observó al microscopio de fluorescencia el patrón de colonización sobre las raíces. El efecto sobre el desarrollo vegetal (PGP) se evaluó midiendo biomasa radical y aérea y altura.

Resultados: La cepa comercial expuso gran capacidad para solubilizar fosfatotricálcico, como se esperaba, pero además se observaron altas actividades relativas en AL y AYH, las cuales están relacionados con el biocontrol en otras *Pseudomonas* (Sacherer *et al.* 1994, doi: 10.1111/j.1574-6968.1994.tb06694.x). El fenotipo de 1008-VM fue idéntico al salvaje y la inserción fue estable, representando un buen modelo para el ensayo en invernáculo. En éste, se observó que en los tratamientos B y C la colonización radical fue alta (con títulos entre 10^{7}-10^{8} UFC/gr de muestras R). Sin embargo, en las muestras SL y SR, la variante marcada fue observada sólo en el tratamiento C. En conjunto, ésto sugiere la existencia de un comportamiento direccional no descripto hasta ahora: estas bacterias podrían desplazarse desde el sustrato hacia la raíz, pero no podrían colonizar el SL partiendo desde la superficie radical. Esto también indicaría que si se inocula en semilla, el efecto microambiental residual sería mínimo. Además, los títulos obtenidos en SL fueron 2 órdenes de magnitud menores en D respecto de C, sugiriendo que la planta también tiene un efecto sobre la supervivencia de la bacteria en el SL circundante. Los efectos PGP acompañaron las tendencias de colonización radical. Por microscopía de fluorescencia, se observaron dos patrones de colonización en superficie radical: difuso o en forma de cordón, según si la inoculación había sido en sustrato o en semilla, respectivamente, sugiriendo que la dinámica de colonización sería distinta en cada caso.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el comportamiento de Rizofos® en el suelo varía según la metodología de la inoculación.

JU 236

0702 - CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE RIZOBIOS NODULADORES DE *DESMANTHUS PASPALACEUS* (LINDM.) BURKART, RECUPERADOS DEL NORESTE ARGENTINO

ZUBER, Nicolás [1] | FORNASERO, Laura Viviana[2] | TONIUTTI, María Antonieta[2] | DEL PAPA, María Florencia[1] | LAGARES, Antonio[1]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP [1]; FACULTAD DE CIENCIA AGRARIAS-UNL [2]

Introducción y Objetivos: Durante los últimos años el incremento de las zonas agrícolas ha desplazado a la ganadería hacia zonas edafo-climáticas consideradas marginales para la producción, donde las leguminosas forrajeras disponibles y adaptadas a esas condiciones son escasas. Aunque *Desmanthus paspalaceus* (Lindm.) Burkart es una leguminosa nativa del centro-norte de nuestro país y con características agronómicas valiosas, en la misma se han reportado síntomas de clorosis, poco vigor y escasa producción de plantas. Tales problemas se han atribuido a deficiencias de nitrógeno derivadas de la condición de los suelos en los que se encuentra esta leguminosa, y también a la deficiente asociación de la planta con rizobios eficientes fijadores de nitrógeno. Atendiendo al valor de contar con un sistema simbiótico eficiente y adecuado para zonas marginales, desde hace más de una década hemos abordado la caracterización feno y genotípica de los rizobios que nodulan D. paspalaceus con el propósito de explorar la biodiversidad existente en el conjunto de microsimbiontes que pueblan los suelos locales y que pueden ser susceptibles de ser utilizados en programas de selección de estirpes y elaboración de inoculantes.

Resultados: La colección cuya caracterización presentamos en este trabajo está conformada por 54 rizobios noduladores de *D. paspalaceus* provenientes de las provincias de Chaco, Corrientes y Misiones. Los aislamientos fueron genotipificados como *Mesorhizobium* spp. por medio de la secuenciación parcial del rDNA 16S y por espectrometría de masas MALDI-TOF (Biotyper, Bruker), además de ser evaluados en su diversidad genética por medio de análisis de huella digital genómica por PCR (BOX-PCR). La caracterización fenotípica de los aislamientos se realizó por métodos microbiológicos clásicos y se evaluó la tolerancia de los mismos a diferentes estreses abióticos en medios de cultivo con diferentes pHs, distintas temperaturas y diferentes contenidos de sal (NaCl); en todos los casos en relación a tratamientos control que desarrollaron en condiciones óptimas de crecimiento. En un número importante de aislamientos (34) hemos observado características destacadas de tolerancia a al menos dos de los estreses ensayados.

Conclusiones: Teniendo en cuenta la tolerancia a estreses y la diverdidad genómica de los aislamientos de la colección iniciaremos ensayos orientados a evaluar la eficiencia simbiótica hacia la selección de cepas potencialmente útiles para la formulación de inoculantes eficientes para la producción forrajera de *D. paspalaceus.*

SAMIGE - Microbiología Molecular

JU 237

0395 - PLATAFORMAS PORTADORAS DE *BLA*$_{VIM-2}$ EN DIFERENTES ESPECIES DE *PSEUDOMONAS* GRUPO *PUTIDA*: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVENTOS INVOLUCRADOS EN SU DISEMINACIÓN

BROVEDAN, Marco [1] | MARCHIARO, Patricia[1] | FACCONE, Diego[2] | CORSO, Alejandra[2] | PASTERAN, Fernando[2] | VIALE, Alejandro[1] | LIMANSKY, Adriana[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) [1]; INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" [2]

Introducción y Objetivos: La producción de ß-lactamasas constituye el principal mecanismo de resistencia a carbapenemes en bacilos Gram-negativos, siendo las metalo-ß-lactamasas (MßLs) adquiridas las de mayor relevancia clínica. En particular, VIM-2 es una de las MßLs prevalentes en el mundo, detectada esencialmente en el patógeno oportunista *Pseudomonas aeruginosa* (*Pae*), y en menor medida en especies ambientales/oportunistas de *Pseudomonas* grupo *putida* (*P.* g *putida*). El objetivo es caracterizar las plataformas involucradas en el ensamble y diseminación de elementos genéticos móviles (EGM) portadores de *bla*$_{VIM-2}$ en especies de *Pseudomonas* spp así como evidenciar el rol de *Pseudomonas* spp. como "fábrica" ambiental de EGM de implicancia clínica, y de nexo entre especies ambientales y patógenos oportunistas.

Materiales y Métodos: Se incluyeron aislamientos clínicos de *P.* g *putida* (n: 13) y de *Pae* (n: 1) productores de VIM-2 provenientes de pacientes de hospitales de Rosario o Buenos Aires. La identificación se basó en el análisis filogenético de secuencias concatenadas del ARNr 16S, gyrB y rpoD, e incluyó 19 cepas de referencia. La identidad de aislamientos de la misma especie fue establecida mediante OD-PCR. El gen *bla*$_{VIM-2}$ y su entorno genético fueron identificados por PCR/secuenciación; y la localización del gen mediante ensayos de

transferencia de ADN, así como digestión de ADN genómico con S1 o X*baI*seguido de electroforesis en campo pulsado/Southern blot utilizando bla_{VIM-2} como sonda.

Resultados: El análisis filogenético identificó 7 especies de *P.* g *putida*, incluyendo *P. asiática* (n: 4); *P. putida* (n: 2); *P. monteilii* (n: 2); *P.* g *putida*/II (n: 2); *P.* g *putida*/I (n: 1); *P.* g *putida*/V (n: 1); y una nueva especie asignada aquí como *P.* g *putida*/VII (n: 1). OD-PCR reveló clones diferentes para *P. putida*, *P. monteilii* y *P.* g *putida*/II. Por su parte, los 4 aislamientos de *P. asiática* constituyen 2 clones, PaA (n: 3) y PaB (n: 1). El entorno de bla_{VIM-2} en 13/14 aislamientos totales reveló que se encuentra en integrones/transposones (In/T) tipo-Tn*402* con la maquinaria de transposición completa, denominados Tn*6335* y Tn*6336* (en 11/13 y 2/13 aislamientos, respectivamente), mientras que el aislamiento restante exhibe un In/T incompleto. El análisis de localización de las plataformas permitió identificar plásmidos conjugativos tipo-pLD209 portadores de bla_{VIM-2} en 6 cepas de *P.* g *putida*, denominados así por su similitud con pLD209 [1]; y un plásmido de elevado peso molecular en *Pae*. Los restantes aislamientos (n: 7) evidenciaron portación cromosomal de bla_{VIM-2}.

Conclusiones: Los resultados en conjunto muestran la capacidad de diferentes especies de *P.* g *putida* para intercambiar plásmidos y entre éstas con *Pae*; así como la funcionalidad del Tn*6335* y Tn*6336*, detectados en plásmido como en cromosoma. Este análisis revela la prevalencia de dichos In/T y de plásmidos tipo-pLD209 en especies de *P.* g *putida* de nuestro país, y confirma la diseminación de bla_{VIM-2} ligada no sólo a cepas epidémicas, sino a la transferencia de EGM prevalentes. 1- Marchiaro et al., 2014. AAC 58:1816-1821.

JU 238

0402 - EL FLAGELO DE *SERRATIA MARCESCENS* EN LA INVASIÓN Y DISEMINACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES

MARISCOTTI, Javier Fernando | GARCÍA VÉSCOVI, Eleonora

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR)

Introducción y Objetivos: *Serratia marcescens* es un patógeno oportunista en humanos y se encuentra ampliamente distribuida, en el medio ambiente y en un amplio rango de organismos hospedadores. En humanos puede producir una gran variedad de infecciones con creciente incidencia. Nuestro grupo demostró que *S. marcescens* es capaz de invadir, persistir y proliferar dentro de células no fagocíticas. Demostramos que la expresión flagelar es esencial para la adherencia a las células epiteliales y su posterior internalización en células no fagocíticas, lo que sugiere que el flagelo puede actuar como una adhesina. Utilizando células epiteliales, demostramos que la toxina formadora de poros ShlA de *S. marcescens* provoca una inducción extracelular de autofagia y que la bacteria puede sobrevivir y replicarse dentro de vesículas que reclutan marcadores de autofagia. Además, determinamos que *S. marcescens* puede escapar de las células no fagocíticas infectadas de una manera dependiente de ShlA. También mostramos que las bacterias que egresan de las células infectadas conservan la capacidad de invadir con éxito nuevas células epiteliales. Los objetivos de este trabajo, son analizar si la motilidad del flagelo y la quimiotaxis participan en los procesos de adherencia, invasión de células epiteliales. Además, evaluar la expresión intracelular del flagelo y su participación en el proceso de diseminación.

Materiales y Métodos: Realizamos ensayos de adherencia, invasión de células epiteliales comparando la estirpe silvestre (Wt) con los mutantes de los genes *motA* y *motB* del motor flagelar y un mutante en el gen *cheY* de quimiotaxis. Analizamos la expresión intracelular del flagelo realizando ensayos de inmunofluorescencia indirecta y usando plásmidos reporteros en el vector pPROBE con los promotores de los genes *flhD* y *fliA*, reguladores maestros del flagelo. Determinamos los niveles de flagelina de las bacterias que egresan de las células infectadas mediante ensayos de inmunodetección.

Resultados: Los mutantes *motA* y *motB* que tienen flagelo, pero no pueden moverlo, presentaron una menor adherencia e invasión que la cepa Wt, comportándose como las mutantes que no poseen flagelo. Mientras que la mutante *cheY* que posee un flagelo móvil pero no responde a los estímulos quimiotácticos presenta la misma capacidad de adherirse e invadir que la cepa Wt. Los resultados de inmunofluorescencia indirecta y los niveles de expresión determinados con los plásmidos reporteros muestran que *S. marcescens* expresa el flagelo en el interior de las células epiteliales, y las bacterias que egresan de las células infectadas también tienen flagelo.

Conclusiones: La motilidad del flagelo de *S. marcescens* es esencial para la adherencia e invasión de las células epiteliales, pero la quimiotaxis es dispensable. *S. marcescens* es capaz de expresar el flagelo dentro de las células epiteliales y luego escapa al sobrenadante del cultivo de la célula hospedadora lista para propagarse con éxito a células no infectadas.

JU 239

0406 - ROL DIFERENCIAL DE LAS PROTEINAS FLIL EN LOS DOS SISTEMAS FLAGELARES DE *BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS*USDA 110

MENGUCCI, Florencia | DARDIS, Carolina | ALTHABEGOITI, María Julia | MONGIARDINI, Elias | LODEIRO, Anibal | QUELAS, Juan Ignacio

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: Los flagelos son estructuras especializadas, altamente complejas, que permiten la propulsión de las bacterias en distintos ambientes. La natación es un tipo de movimiento mediado por flagelos, la cual consiste en el movimiento de células individuales en medio líquido. *B. diazoefficiens* es el único rizobio descripto que posee dos sistemas flagelares: uno subpolar y otro lateral, los cuales aportan al movimiento de natación. Ambos sistemas están compuestos por grupos de genes distintos, que se regulan de manera independiente y, a diferencia de otras especies, se expresan simultáneamente en medio líquido suplementado con arabinosa. Las proteínas que forman la estructura flagelar se encuentran bien caracterizadas en bacterias modelo. Sin embargo, la función precisa de una pequeña proteína estructural llamada FliL, se desconoce. En *E. coli*, FliL se localiza en la base de la estructura flagelar y parece contribuir a la estabilidad del motor cuando aumenta la fuerza de torque. Para estudiar la función de FliL en la natación de *B. diazoefficiens* USDA 110, se obtuvieron mutantes delecionales en los genes *fliL*$_S$ y *fliL*$_L$, asociados al flagelo subpolar y lateral respectivamente. Además, para eliminar interferencias entre los sistemas flagelares, se delecionó *fliL* sobre cepas carentes de los filamentos del sistema flagelar subpolar ("DELTA"*fliC*) y lateral ("DELTA"*lafA*).

Materiales y Métodos: Las cepas mutantes se obtuvieron utilizando técnicas clásicas de biología molecular. La movilidad en medio semisólido se evaluó en medio mínimo con 0,3% agar. La velocidad de nado se adquirió mediante el análisis de bacterias filmadas en medio líquido con el software Move-tr/2D. El efecto de la viscosidad se ensayó adicionando polivinilpirrolidona (PVP) al medio de cultivo. Las flagelinas y el ARNm se extrajeron de medios líquidos y agarizados, y se analizaron mediante SDS-PAGE y RT-qPCR, respectivamente.

Resultados: En agar semisólido se observó una mayor movilidad de la mutante "DELTA"*fliL*$_S$ respecto a la cepa salvaje, mientras que "DELTA"*fliL*$_L$ nadó menos que ambas. En relación a ello, proteínas extracelulares extraídas de la cepa "DELTA"*fliL*$_S$ mostraron mayor intensidad de señal de las flagelinas del sistema lateral (LafA) respecto a las subpolares. Esta mayor cantidad de LafA en la cepa "DELTA"*fliL*$_S$ se correlacionó con un aumento del ARNm del regulador maestro del sistema lateral (*lafR*), y también de sus genes diana. Al caracterizar la cepa "DELTA"*lafA*/"DELTA"*fliL*$_S$, se observó una reducción en la velocidad de nado y en el diámetro del halo de natación en medio semisólido respecto a la cepa parental "DELTA"*lafA*. Por el contrario, al evaluar ambos parámetros en la cepa "DELTA"*fliC*/"DELTA"*fliL*$_L$, no se observó movilidad alguna.

Conclusiones: FliL$_L$ resultaría esencial para el correcto funcionamiento del sistema flagelar lateral, mientras que FliL$_S$ posee un rol importante pero no determinante. A su vez, la ausencia de FliL$_S$ en la mutante simple indicaría una señalización cruzada entre ambos sistemas flagelares, conexión que, de corroborarse, no ha sido descripta en esta especie bacteriana.

JU 240

0433 - CAMBIOS GENÉTICOS QUE SUSTENTAN UN FENOTIPO DE MOVILIDAD AUMENTADA EN *BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS*

ALTHABEGOITI, María Julia | LOZANO, Mauricio | MENGUCCI, Florencia | DARDIS, Carolina | LÓPEZ GUERRA, Gabriela | QUELAS, Ignacio | MONGIARDINI, Elias | LODEIRO, Anibal

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: *Bradyrhizobium diazoefficiens* es capaz de establecer simbiosis con soja y permitir la fijación del N_2 atmosférico cuando el suelo está desprovisto de formas asimilables de N, siendo la soja un cultivo con una alta demanda de N. Existe un fenómeno de competición para la nodulación entre la cepa del inoculante y la población naturalizada, donde la cepa del inoculante ocupa como máximo un 10% de los nódulos, resultando en una fijación no exitosa. Sin embargo se ha observado que una cepa de mayor movilidad seleccionada sin emplear técnicas de ADN recombinante, *B. diazoefficiens* LP 3008, ha ocupado más nódulos que la cepa silvestre y ha provocado un aumento en el rendimiento del cultivo de soja (Althabegoiti et al., 2008; López Garcia et al., 2009). Por otra parte, se ha probado la desrepresión del flagelo lateral de LP 3008 en condiciones en las cuales su cepa parental LP 3004 no lo expresa. No obstante hemos demostrado que además hay otros factores en juego independientes de la movilidad (Althabegoiti et al. 2011).

Materiales y Métodos: Se realizó la secuenciación completa de los genomas de *B. diazoefficiens* LP 3004 y LP 3008 empleando la tecnología Illumina HiSeq2000. El análisis se realizó con el programa Snippy (Semman T. 2015) a partir del cual se alinearon las secuencias crudas fastQ de ambas cepas con el genoma de referencia de USDA 110 (Davis-Richardson et al. 2017). Posteriormente se obtuvieron mutantes con el objetivo de reproducir los cambios hallados.

Resultados: La cepa LP 3004 es una derivada de *B. diazoefficiens* USDA110 resistente natural a estreptomicina obtenida en nuestro laboratorio. Entre las cepas USDA 110 y LP 3004 fueron encontrados 52 cambios en el genoma, 45 inserciones (INS) de 1 pb, 6 cambios puntuales (SNPs) y 1 deleción (DEL) de 1 pb. Entre la cepa LP 3004 y LP 3008 se han encontrado 9 cambios: 8 SNPs (7 en regiones codificantes y 1 en una región intergénica, pero ninguna en genes relacionades a la movilidad o la quimiotaxis) y una única DEL de 11 pb en el gen blr6743. Por su característica de alterar el marco de lectura del gen esta deleción resultó la mejor candidata a estudiar. Blr6743 codifica para la subunidad alfa de un ferredoxina (Fd) oxidorreductasa, y Blr6744

la subunidad beta de la misma. Esta enzima es capaz de transformar a-cetoglutarato en succinil-CoA o piruvato en acetil-CoA, en ambos casos produciendo CO_2 y Fd reducida, representando vías alternativas a los complejos de la piruvato deshidrogenasa y la a-cetoglutarato deshidrogenasa. Hemos realizado una deleción de blr6743/6744 manteniendo el marco de lectura en la cepa LP 3004, y de forma contraria, hemos transferido el alelo salvaje de blr6743 a la cepa LP 3008. En ninguna de las estrategias hemos observado que el fenotipo de movilidad y expresión del flagelo revierta.

Conclusiones: Con estos resultados podemos concluir que el fenotipo de LP 3008 no reside únicamente en esta mutación, sino que será un efecto sinérgico de una/s o todas las mutaciones en su conjunto.

JU 241

0446 - THE MRNAS ENCODING POLYHYDROXYBUTYRATE (PHB)-GRANULE ASSOCIATED PROTEINS PHAP1/2 ARE ASSOCIATED *IN VIVO* WITH THEIR POST-TRANSCRIPTIONAL SMALL RNA REGULATOR MMGR IN *SINORHIZOBIUM MELILOTI*

LAGARES (JR.), Antonio [1] | LINNE, Uwe[2] | BECKER, Anke[3] | VALVERDE, Claudio[4]

LBMIBS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET / SYNMIKRO, PHILLIPS-UNIVERSITY, MARBURG [1]; CHEMISTRY DEPARTMENT – MASS SPECTROMETRY, PHILLIPS-UNIVERSITY, MARBURG [2]; SYNMIKRO, PHILIPPS-UNIVERSITY, MARBURG [3]; LBMIBS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET [4]

Introduction and objectives: The highly conserved *mmgR* gene encodes a 77-nt non-coding small RNA (sRNA) in the N_2-fixing legume symbiont *Sinorhizobium meliloti*. In *S. meliloti*, the expression of MmgR is mainly regulated at the transcriptional level by the N and C metabolism master regulators NtrC and AniA, respectively. MmgR regulates the accumulation of the major C- and reducing-power-storage polymer polyhydroxybutyrate (PHB) under conditions of N starvation and C surplus. The absence of MmgR in the *S. meliloti mmgR* mutant strain results in the relaxation of a post-transcriptional control over both PHB-granule associated phasins PhaP1/2. Our current model for MmgR function suggests that the sRNA is part of a regulatory loop that operates to maintain a proper structure and amount of PHB granules in *S. meliloti* through a fine-tuning of the intracellular levels of phasins and polymer, on the basis of the availability of N and C. Since the molecular interactions between MmgR and its specific target molecules –which ultimately determine the biological function of the sRNA- were still unknown, we planned to characterize the interactome of MmgR.

Materials and methods: In order to identify the RNAs and proteins to which MmgR binds *in vivo*, we expressed an MS2-tagged MmgR species in the *S. meliloti mmgR* mutant strain as a bait to selectively purify the interactome of the small RNA by means of an affinity chromatography of the bacterial lysate in an amylose-filled column loaded with the MS2bp-MBP protein (i.e., MS2-binding protein fused to the mannose binding protein), followed by several wash steps and a final elution of the selectively retained molecules using a mannose-containing buffer. The population of RNAs and proteins extracted from the chromatographic eluates were subjected to RNA-sequencing and quantitative proteomics in order to determine MmgR RNA and protein binding partners, respectively.

Results: A small set of RNAs that interact *in vivo* with MmgR was identified. Among them, the transcripts corresponding to the genes *SMc00777* and *SMc02111* (*phaP1* and *phaP2*, encoding for PHB-granule-associated phasins 1 and 2, respectively) were of particular relevance since their finding strongly suggests that a direct MmgR-mediated regulation operates over them to impact on PHB storage metabolism. Whether base-paring between MmgR and these mRNAs accounts for the observed regulation is currently being addressed. Furthermore, Hfq (the chaperone of sRNA-mRNA interactions) was confirmed as a member of MmgR interactome.

Conclusions: We uncovered the interactome of the small RNA MmgR in *S. meliloti* by means of the MS2-sRNA tagging strategy coupled to affinity purification and RNAseq/qProteomics, an approach that has been set up and successfully used in enterobacterial models. Remarkably, the mRNAs encoding PHB-granule associated proteins were found to be associated *in vivo* with their post-transcriptional sRNA regulator MmgR, which points to a direct post-transcriptional regulation of PhaP1/2 expression by MmgR.

JU 242

0479 - CARACTERIZACIÓN DEL PROFAGO PORTADOR DE *STX*2A DE UNA CEPA DE *ESCHERICHIA COLI* O145:H- QUE NO EXPRESA TOXINA SHIGA

KRÜGER, Alejandra[1] | BURGÁN, Julia[1] | MUTTERS, Nico T.[2] | ROSSEN, John W. A.[3] | **LUCCHESI, Paula M. A.** [1]

LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, CIC, FCV, UNCPBA [1]; CENTER FOR INFECTIOUS DISEASES, MEDICAL MICROBIOLOGY AND HYGIENE, HEIDELBERG UNIVERSITY

HOSPITAL [2]; DEPARTMENT OF MEDICAL MICROBIOLOGY, UNIVERSITY MEDICAL CENTER GRONINGEN, UNIVERSITY OF GRONINGEN [3]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es agente causal en humanos de diarrea, colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH). Esta toxina está codificada en fagos que se encuentran integrados en el genoma bacteriano (profagos), y la expresión y secreción de la misma están asociadas al ciclo lítico de estos fagos. Las cepas STEC productoras del subtipo 2a de la toxina son las que se aíslan con mayor frecuencia de casos de CH y SUH, y el serotipo más reportado es O157:H7, seguido, en Argentina, por O145:H-. Estudios previos en nuestro laboratorio mostraron que la mayoría de las cepas O145:H- analizadas expresaban *stx*2a y producían fagos Stx2a, independientemente de su origen (humano o bovino). La excepción fue una cepa aislada de humano (denominada 355), por lo cual se decidió secuenciar su genoma para identificar características que pudieran explicar estas diferencias. El objetivo se centró en analizar genéticamente al profago que porta el gen *stx*2a de esta cepa y compararlo con el profago ArgO145 de una cepa STEC O145:H- de Argentina que expresa la toxina y produce partículas infectivas del fago.

Materiales y Métodos: El ADN de la cepa 355 se extrajo con un *kit* comercial y se secuenció el genoma completo mediante la plataforma Illumina MiSeq obteniendo lecturas pareadas de 250 pb con una cobertura mínima de 60 veces. El ensamble *de novo* de los *contigs* se realizó utilizando el *software* CLC Genomics Workbench (Qiagen) y el análisis comparativo a través de BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST).

Resultados: Se detectó *stx*2a en un *contig* que, si bien no cubre todo el genoma del fago, contiene también los genes codificantes de las proteínas regulatorias CI, Cro y Q. Este *contig* presentó 100% de identidad con ArgO145 excepto en un número pequeño de bases en sus extremos que corresponderían a extremos de secuencias de inserción (IS). Por comparación con el genoma de ArgO145 se identificaron otros 4 *contigs* con alta similitud de secuencia, dos de ellos también con un extremo correspondiente a un fragmento de IS. Los 5 *contigs* identificados cubren el 97,6 % del genoma de ArgO145 con una identidad cercana al 100% y sugieren la presencia de IS en dos sectores del genoma del profago de la cepa 355 que corresponden a probables proteínas de función desconocida.

Conclusiones: Los resultados indican que las diferencias en cuanto a transcripción de *stx*2a e inducción del profago no estarían explicadas por la región regulatoria ubicada inmediatamente río de arriba del operón *stx*2a y que alguna de estas proteínas interrumpidas por IS tendría un rol importante en la transcripción de los genes relacionados con el ciclo lítico del fago.

JU 243

0501 - IMPACTO DE LA RELOCALIZACIÓN DE GENES IMPLICADOS EN EL FLUJO DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA EN EL CRECIMIENTO BACTERIANO Y LA APTITUD ADAPTATIVA

LAROTONDA, Leticia Inés | BORDIGNON, Belén | COMERCI, Diego José | SOLER BISTUÉ, Alfonso

IIBIO-UNSAM

Introducción y Objetivos: La tasa de crecimiento (TC) es un parámetro clave de la fisiología bacteriana que varía ampliamente entre microorganismos. Sin embargo, su base genética no se ha esclarecido aún. En bacterias de crecimiento rápido, los genes que codifican para proteínas ribosomales (PR) y la ARN polimerasa (ARNP) se ubican cerca del origen de replicación (oriC). Bacterias de crecimiento rápido se dividen, en condiciones óptimas, en un tiempo menor al requerido por la ADN polimerasa para completar la duplicación del genoma. Esta paradoja se resuelve superponiendo rondas de replicación, al reiniciar la duplicación del ADN en cromosomas parcialmente replicados, un proceso llamado replicación multi-horquilla. Como consecuencia, los genes cercanos al oriC se benefician de una mayor dosis durante esta fase del crecimiento. Por lo tanto, dicho sesgo posicional puede ser una estrategia para maximizar la expresión de los genes de transcripción y traducción. Como la mayoría de estas observaciones provienen de estudios bioinformáticos, nuestro objetivo es probar experimentalmente estas correlaciones en una bacteria de crecimiento rápido.

Materiales y Métodos: Usamos Vibrio cholerae como modelo experimental. Su genoma puede modificarse ampliamente mediante transformación natural acoplada a técnicas de recombinación basadas en recombinasas de fagos lambdoides. Como loci modelo, estudiamos S10-spc-a (S10), que codifica la mayoría de PR y rpoBC que codifica al núcleo de la única ARNP bacteriana.

Resultados: Con las herramientas mencionadas anteriormente, alteramos la ubicación genómica de los loci S10 y rpoBC colocandolos a distancias crecientes del oriC. Nuestros resultados muestran que esto provocó una disminución de la TC y de la aptitud adaptativa. Contrariamente a lo esperado, la relocalización de S10 causó un efecto más fuerte. Por otra parte, la relocalización cercana al sitio original no mostró ningún fenotipo por lo tanto, el proceso de relocalización per se no es el responsable de fenotipos observado. A través de la microscopía time-lapse, verificamos que las diferencias en las curvas de crecimiento se deben a cambios en la TC y no a cambios morfológicos, a la pérdida de viabilidad o muerte de una subpoblación. Además, el parámetro de UFC /DO fue invariable entre las cepas, lo que sugiere que la relocalización del locus no altera la viabilidad celular.

Conclusiones: La alteración de la posición genómica de RP y ARNP afecta directamente la TC. Trabajos previos de genómica comparada asignaban mayor efecto a estas últimas en la predicción del tiempo generacional. Si bien ambos loci afectaron e TC nuestros experimentos muestran lo contrario. En trabajos futuros, buscaremos empujar el crecimiento de Vibrio cholera a su límite inferior.

JU 244

0522 - BACTERIAS INDÍGENAS EN EMBUTIDOS SECOS FERMENTADOS: CAPACIDAD DE IMPLANTACIÓN E IMPLICACIONES EN LA CALIDAD DEL PRODUCTO

RIVAS, Gabriel Alejandro [1] | SÁNCHEZ, Mariana[2] | VALDÉS LA HENS, Danay[1] | SEMORILE, Liliana C.[1] | DELFEDERICO, Lucrecia[1]

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR, DEPARTAMENTO DE C. Y T., UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES [1]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA INDUSTRIAL [2]

Introducción y Objetivos: Los embutidos cárnicos fermentados artesanalmente revisten importancia socio-económica para la Argentina, con las fábricas de chacinados habilitadas ubicadas principalmente en las provincias de Bs. As., Santa Fé y Córdoba, según la Cámara Argentina de la Industria de Chacinados y Afines (CAICHA). En especial, los salames de Colonia Caroya, Pcia. de Córdoba, con su certificación de Indicación Geográfica (IG), son un producto regional de renombre. En este trabajo nos hemos propuesto, por un lado, contribuir a la caracterización de la diversidad bacteriana de una muestra de esta procedencia, y por otro, obtener aislamientos de los grupos bacterianos más emblemáticos para este proceso: Bacterias del Ácido Láctico (BAL) y Cocos Coagulasas Negativos (CCN), adecuados para ser utilizados como iniciadores de fermentación.

Materiales y Métodos: Partiendo de una muestra de un salame artesanal de Colonia Caroya, se analizó la diversidad bacteriana de la misma mediante técnicas independientes (PCR-DGGE) y dependientes de cultivo, y se obtuvieron 36 aislamientos de BAL y 17 CCN. Los mismos fueron identificados molecularmente por secuencia de un fragmento del gen 16S rRNA, tipificados por RAPD-PCR y caracterizados teniendo en cuenta ciertas propiedades tecnológicas: actividades proteolíticas y lipolíticas sobre distintos sustratos, y capacidad de crecimiento frente a diferentes condiciones de estrés: pH y NaCl. Asimismo, en lo referente a inocuidad, se evaluaron la presencia/ausencia del gen codificante de histidina descarboxilasa involucrado en la síntesis de Histamina, y presencia/ausencia de resistencias transferibles frente a antibióticos inhibidores de la síntesis de pared celular y síntesis proteica. Estos resultados nos permitieron formular un Cultivo Iniciador de Fermentación (CIF), compuesto por cepas autóctonas (CIF-UNQ). En este contexto, se estudió la capacidad de implantación de las cepas, en condiciones controladas en la planta piloto del INTI Carnes, a lo largo de un proceso fermentativo. Para ello, se elaboraron 2 lotes cárnicos, uno inoculado con el CIF-UNQ y el otro con un CIF-comercial, usando este último con fines comparativos. En ambos casos se realizaron: recuentos totales de BAL y CCN y el seguimiento de implantación de los CIF se realizó mediante RAPD-PCR. Asimismo, se monitorearon la evolución del pH y de la merma de peso y se realizó un análisis del perfil de textura de los productos finales.

Resultados: A partir de los resultados de caracterización tecnológica y de inocuidad de los aislamientos, se seleccionaron 1 BAL, *Lactobacillus sakei*, y cinco CCN (*Macrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus equorum*, *Rothia sp.*, *Staphylococcus saprophyticus*), a fin de constituir el CIF-UNQ. El mismo, demostró una efectiva capacidad de implantación de las BAL, con la consiguiente disminución del pH en los primeros estadios, una paulatina pérdida de peso a lo largo del proceso fermentativo, un perfil adecuado de textura para cada uno de los productos finales, y una sensibilidad a antibióticos cepa-dependiente.

Conclusiones: Estos resultados son promisorios para el uso de las cepas estudiadas como posibles iniciadores de fermentación en la industria cárnica. Las mismas asegurarían el correcto desarrollo del proceso fermentativo, contribuyendo a mejorar la calidad sanitaria del producto final y conservando características fisicoquímicas y organolépticas similares a las del producto artesanal.

JU 245

0530 - UNA NUEVA NAD(P)H DESHIDROGENASA DE *XANTHOMONAS CITRI SUBSP. CITRI* INVOLUCRADA EN LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO Y OXIDATIVO

BARCAROLO, María Victoria | GARAVAGLIA, Betiana | GOTTIG, Natalia | OTTADO, Jorgelina

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos: *Xanthomonas citri subsp. citri* (Xcc) es el agente causal de la cancrosis de los cítricos, enfermedad mundial que afecta a variedades cítricas provocándoles una disminución en la producción y calidad de los frutos. Durante el ciclo de vida de Xcc como epífita sobre la superficie del tejido vegetal, está expuesta a condiciones ambientales desfavorables entre ellas, baja disponibilidad de agua y estrés osmótico. En

un estudio de proteómica realizado previamente evaluamos la adaptación de Xcc en condiciones de estrés salino generado por NaCl 0,25 M. Una proteína homóloga a una NAD(P)H deshidrogenasa (DH), presentó una abundancia de 30 veces en bacterias sometidas a estrés salino. El objetivo de este trabajo consiste en dilucidar la función de la proteína DH en la interacción planta-patógeno y en la adaptación de Xcc en condiciones de estrés salino y oxidativo.

Materiales y Métodos: Mediante qRT-PCR evaluamos los niveles de expresión de la DH y, para caracterizar la funcionalidad de esta proteína generamos una mutante, *XccDH-* por doble evento de recombinación y se complementó conjugando pBBR1MCS-2:DH, *XccDH-c*. A través de curvas de crecimiento evaluamos el comportamiento de las bacterias en NaCl 0; 0,25 y 0,5 M. Para analizar la participación de la DH en la tolerancia a estrés oxidativo, incubamos las bacterias en H_20_2 25 mM. La acumulación de especies reactivas del oxígeno (ROS) en los extractos bacterianos luego del tratamiento con H_20_2 25 mM, NaCl 0,25 y 0,5 M, se cuantificaron utilizando la sonda fluorescente diacetato 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (H_2DCFDA) y mediante el ensayo de "sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico" (TBARS).

Resultados: Al evaluar los niveles de expresión de la DH en NaCl 0,25 M observamos una inducción de 3.3 veces ($p<0,05$) respecto al control. Por otra parte, analizamos el crecimiento bacteriano de Xcc, *XccDH-* y *XccDH-c* y observamos que disminuyó con el aumento de la concentración de NaCl, sin observar diferencias significativas entre las cepas en estudio. Al caracterizar la participación de esta proteína en el proceso de patogenicidad, no observamos diferencias en las lesiones de la enfermedad producidas por las cepas en estudio. Sin embargo, cuando se evaluó la sobrevida epifítica, *XccDH-* presentó una tasa de sobrevida menor sobre el tejido vegetal con respecto a Xcc ($p<0,05$). En condiciones de estrés oxidativo *XccDH-* mostró mayor sensibilidad al oxidante ($p<0,05$), y al cuantificar ROS en los extractos bacterianos, *XccDH-* mostró un aumento significativo de los niveles de ROS ($p<0,05$), sugiriendo que la proteína DH estaría involucrada en el control de la acumulación de ROS intracelular.

Conclusiones: Con los resultados obtenidos hasta el momento, se logró caracterizar la enzima NAD(P)H deshidrogenasa, una nueva proteína involucrada en los mecanismos de adaptación bacteriana frente a condiciones ambientales desfavorables, que determinan el éxito del proceso de patogenicidad.

JU 246

0539 - NIVELES DE EXPRESIÓN DEL GEN EFECTOR *NLEB* EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* VEROTOXIGÉNICO DE DISTINTO ORIGEN Y SEROTIPO

CADONA, Jimena[1] | BURGÁN, Julia[2] | BUSTAMANTE, Ana[3] | **SANSO, Andrea Mariel** [4]

LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA, TANDIL [1]; LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA, TANDIL [2]; LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA, TANDIL [3]; LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA, TANDIL [4]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* verotoxigénico (VTEC) es un patógeno transmitido por alimentos que coloniza el tracto intestinal de los seres humanos, pudiendo causar síndrome urémico hemolítico (SUH). El diagnóstico de la infección por VTEC se ve obstaculizado por la incapacidad de distinguir entre las cepas que tienen el potencial de causar SUH de aquellas que no. La patogenicidad de las cepas VTEC *eae*-positivas depende, en gran parte, de la isla de patogenicidad (PAI) LEE, la cual codifica el sistema de secreción de tipo III (SSTIII). Particularmente, *nleB* es uno de los principales genes efectores del SSTIII, ubicado en otra PAI, OI-122, y propuesto como marcador de virulencia. Teniendo en cuenta el rol que podrían tener estos efectores en la patogenicidad de VTEC, el objetivo de este estudio fue evaluar y comparar los niveles de expresión basal del gen *nleB*, en aislamientos VTEC de distinto origen y serotipo.

Materiales y Métodos: Se analizaron 24 cepas VTEC pertenecientes a 10 serotipos (O157:H7 y no-O157) aisladas de diferentes orígenes, seres humanos, bovinos y alimentos. Las cepas se cultivaron en medio DMEM a 37 °C, con CO_2 al 5 % hasta una DO_{600} de 0,6. Luego se realizó la extracción del ARN y se retrotranscribió a ADNc. Los niveles de expresión de *nleB* se obtuvieron mediante reacciones de cuantificación relativa por qPCR, utilizando *SYBR Green*. Los valores de *fold change* se calcularon en base al método ÅÅCT, usando el gen *housekeeping tufA* como control endógeno, y una cepa VTEC O157:H7 aislada de un niño con SUH como referencia. Las diferencias de expresión entre grupos (origen y serotipo) se compararon mediante análisis de varianza (ANOVA, p-valor <=0,05).

Resultados: Los resultados mostraron diferentes niveles de expresión entre las cepas estudiadas. La mayoría de los aislamientos presentó niveles de expresión detectables, con excepción de una cepa O128:NM, de origen humano, la cual resultó negativa. Por otro lado, 4 aislamientos de origen humano y bovino (O145:NM, O146:H21 y O157:H7) presentaron niveles de expresión superiores a la cepa control. Contrariamente, dos cepas de origen humano (O121:H19 y O145:NM), y una cepa de alimento (O157:H7), presentaron valores considerablemente inferiores a la cepa control. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de expresión asociadas al origen (bovino y humano) ni al serotipo de los aislamientos, pero sí dentro del grupo de cepas aisladas de casos clínicos. Entre ellas, la expresión de *nleB* resultó significativamente superior en las cepas provenientes de casos de SUH.

Conclusiones: En conclusión, los niveles de expresión basal del gen *nleB* en las cepas VTEC estudiadas no presentaron diferencias asociadas al origen o serotipo. Sin embargo, dentro del grupo de aislamientos de origen humano, los niveles de expresión sí fueron diferentes entre cepas SUH y no-SUH, hallazgo que podría resultar importante para identificar cepas VTEC causantes de enfermedad grave.

JU 247

0551 - DIAGNÓSTICO MOLECULAR ETIOLÓGICO DEL SÍNDROME DE ÚLCERA GENITAL EN ARGENTINA. PERÍODO 2005-2019

TOUZON, Maria Sol [1] | DÍAZ, Mónica Roxana[1] | CAÑETE, Gustavo[2] | SCARONE, Nahuel[2] | SLY, Gabriela[2] | MORALES, Maria Del Carmen[2] | MANIAS, Valeria[2] | LAURA, Picolli[2] | SCOCOZZA, Laura[2] | BUSCEMI, Luis[2] | MARRERO, Marcela[2] | GALARZA, Patricia[1]

SERVICIO ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL, LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA. INEI-ANLIS [1]; RED NACIONAL DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL [2]

Introducción y Objetivos: Los patógenos más frecuentemente asociados con el síndrome de úlcera genital (SUG) son *Treponema pallidum* (Tp), *Herpes Simplex Virus* (HSV) y *Haemophilus ducreyi* (Hd). El objetivo de este estudio fue determinar la etiología de úlceras genitales (y otras lesiones relacionadas) en pacientes con sospecha clínica de sífilis, derivados al laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades de Transmisión Sexual en Argentina.

Materiales y Métodos: Todas las muestras provenientes de úlceras o lesiones relacionadas fueron tomadas con hisopos, a partir de los cuales se extrajo ADN para la detección de Tp y HSV por una técnica de PCR in house, y, en los casos con sospecha clínica y/o epidemiológica de chancroide, se evaluó también la presencia de Hd por PCR in house. Se determinó el status serológico para sífilis y VIH. Se realizó la detección de Tp por microscopía de campo oscuro (CO) cuando las características de la úlcera lo permitieron. En los casos Tp positivos (CO y/o PCR), se realizó la genotipificación de las cepas mediante secuenciación del gen *tp0548* definiendo 8 variantes alélicas designadas con letras a-h y se evaluó la resistencia a Macrólidos por secuenciación del gen *ARNr 23S*, analizando la presencia de las mutaciones descriptas A2058G y/o A2059G.

Resultados: Se estudiaron 281 muestras que correspondían a 275 pacientes del período 2005-2019: 247 (87,9%) úlceras genitales, 14 (5%) lesiones orales, 10 (3,5%) condilomas lata, 5 (1,8%) úlceras anales, 3 (1,1%) lesiones de tronco y 2 (0,7%) de biopsia de hueso frontal craneal de 2 pacientes. La edad media de los pacientes fue 28 años, 227 (80,8%) eran de sexo biológico masculino y 54 (19,2%) femenino. Once pacientes fueron VIH+. El diagnóstico molecular de SUG fue alcanzado en 152/281 casos: 84 (55,3%) resultaron Tp positivos, de los cuales 78,8% eran úlceras genitales, 9,9% condiloma lata, 8,5% lesiones orales y 2,8% lesiones en cráneo; 76 (54%) resultaron HSV positivos, de los cuales 93% eran úlceras genitales, 4% úlceras anales, 3% lesiones orales. Catorce de los 152 (10,3%) presentaban coinfección Tp y HSV. En ningún caso se detectó la presencia de Hd. De los 84 pacientes con lesiones Tp+, 60 (84,5%) resultaron positivos para sífilis por serología. De 203 úlceras en las que se pudo realizar CO, 165 (81,3%) correlacionaron con el resultado de PCR para Tp. La mutación A2058G del gen *ARNr 23S* de Tp fue hallada en 5/49 (10,2%). De las 33 cepas en las que se analizó el gen *tp0548*, 18 (54,6%) fueron designadas con el alelo f, 11 (33,3%) con el d y 4 (12,1%) con el e.

Conclusiones: Tp y HSV son una causa frecuente de SUG en Argentina. Se debe considerar la coinfección en todos los casos. La sífilis puede tener presentaciones atípicas, como ser lesiones en cráneo. Los estudios moleculares permitieron mejorar el diagnóstico de sífilis, especialmente en los casos en que no se pueden aplicar las metodologías convencionales. Se detectó un nivel elevado de resistencia a Macrólidos en las cepas analizadas. El alelo f de *tp0548* fue el más frecuente.

JU 248

0570 - SECUENCIA GENÓMICA DE LA CEPA UNQOE19 DE *OENOCOCCUS OENI*, LA PRIMERA SECUENCIA GENÓMICA COMPLETAMENTE ENSAMBLADA DE UNA CEPA ENOLÓGICA PSICROTRÓFICA PATAGÓNICA

VALDES LA HENS, Danay [1] | IGLESIAS, Nestor Gabriel[2] | OLGUIN, Nair Tamis[3] | SEMORILE, Liliana[1]

COMISIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (CIC) [1]; CONICET [2]; CONICET [3]

Introducción y Objetivos: En Argentina, la Patagonia es la región vitivinícola más austral del mundo con un clima frío. El uso de cultivos iniciadores para conducir la fermentación maloláctica (FML) no es una práctica habitual en las vinificaciones de vino Patagónico, el fracaso en este proceso se puede atribuir a las temperatura promedio de 14 a 10 ºC durante Abril y Mayo. Un estudio previo de la diversidad de BAL de vinos patagonicos demostró una alta variabilidad de las especies de BAL durante la FML, con un predominio de cepas de *O.*

oeni y *Lb. plantarum*. Además, se ha demostrado que algunas de estas cepas se mantienen viables y realizan FML, además son capaces de implantarse en ensayos de microvinificación, durante la FML a bajas temperaturas de incubación. La capacidad de estas cepas para hacer frente a las condiciones ambientales adversas puede estar relacionada, con la expresión génica. Por tanto, se analizará la secuencia del genoma completo obtenido a partir de la cepa UNQOe19 de *O. oeni*.

Materiales y Métodos: Se utilizaron un total de 103710 lecturas (588 veces la cobertura y una lectura de polimerasa N50 de 14765 pb), con una longitud promedio de 10359 pb y una precisión estimada del 85%, como entrada para el ensamblaje de novo con el paquete Canu. La predicción de las secuencias codificantes se realizaron con GeneMarkS. La anotación del genoma se realizó utilizando pipeline de anotación del genoma procariota del NCBI (PGAP), y las relaciones de ontología de genes (gen onthology) se calcularon utilizando Blast2GO versión 5.1.1. El análisis de Pan-Genoma Bacteriano (BPGA) se usó para comparar la presencia / ausencia de genes en UNQOe19 con otros *O. oeni*.

Resultados: La salida de Canu consistió en un solo contig circular sin gaps; el cromosóma (GenBank CP027431) mostró una longitud de 1826824 pb con un contenido de G + C de 37,9%. De los 1891 genes predichos, 1721 se identificaron como secuencias de ADN codificantes de proteínas, 118 pseudogenes potenciales y 52 genes codificantes de ARN (43 ARNt, 6 ARNr y 3 ARN no codificantes); estos hallazgos son comparables a los de otros *O. oeni*. En comparación con el genoma de la cepa PSU-1 de *O. oeni*, se detectaron 160 genes únicos en *O. oeni* UNQOe19. Entre ellos, 19 genes estaban relacionados con componentes celulares, 29 con procesos metabólicos, 23 con funciones moleculares, 11 con plásmidos y proteínas de transferencia por conjugación, 13 con actividades de transportador transmembrana, 21 con proteínas relacionadas con fagos y 38 con proteínas hipotéticas. Curiosamente, los seis genes restantes se relacionaron con la homeostasis y la respuesta al estrés por actividad de la oxidorreductasa.

Conclusiones: Estos hallazgos sugieren su potencial para ser utilizado como cultivo iniciador de la FML a temperaturas ambientales inferiores a 15 ºC. Una evaluación más detallada ayudará a dilucidar las bases moleculares de la capacidad de UNQOe19 para adaptarse a las condiciones estresantes del vino, incluidas las bajas temperaturas ambientales.

JU 249

0578 - CARACTERIZACIÓN DE UNA MUTANTE DE *HALOMONAS TITANICAE KHS3* POR INTERRUPCIÓN EN EL GEN POLIHIDROXIALCANOATO SINTASA PHAC1

RODRIGUEZ, Ailen Natali [1] | REDERSDORFF, Ingrid[2] | STUDDERT, Claudia[1] | HERRERA SEITZ, María Karina[2]

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA DEL LITORAL [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB CONICET UNMDP, FCEYN [2]

Introducción y Objetivos: Los polihidroxialcanoatos (PHAs) son polímeros de reserva que son sintetizados por muchos microorganismos y pueden ser utilizados en la generación de bioplásticos. Halomonas titanicae KHS3 (Ht KHS3) es una cepa ambiental que fue aislada del agua del puerto de Mar del Plata por su capacidad de crecer utilizando fenantreno como única fuente de carbono y responder quimiotácticamente a dicho sustrato. Se secuenció su genoma completo, y se identificaron genes involucrados en la síntesis de polihidroxialcanoatos, entre los que se encuentran dos genes de tiolasa (phaA), uno de acetoacetil CoA reductasa (phaB), dos de PHA sintasa (phaC). Además se identificaron tres genes que codifican proteínas tipo fasina que recubren los gránulos de PHAs (phaP), un gen homólogo a una proteína reguladora de la síntesis de PHAs (phaR) y dos genes de PHA depolimerasas (phaZ). Todos estos genes se encuentran dispersos en el genoma, y sólo los genes phaC1 y phaP1 se encuentran adyacentes uno de otro. En nuestro laboratorio hemos demostrado que Ht KHS3 es capaz de acumular más del 50% de su peso seco de polihidroxibutirato (PHB), cuando crece tanto en medios con 1% de glucosa como fuente de carbono, como cuando se la priva de nitrógeno en medios que contienen glicerol o fenantreno como fuente de carbono. El objetivo de este trabajo es analizar el rol de las PHA sintasas codificadas en el genoma en la acumulación de PHB en las distintas condiciones.

Materiales y Métodos: Se obtuvo una mutante de Ht KHS3 (SF18) por interrupción en el gen de phaC1, mediante recombinación homóloga de un fragmento interno del gen clonado en un plásmido suicida. Se realizaron curvas de crecimiento en distintas fuentes de carbono (glucosa, glicerol y fenantreno) de la cepa WT y de la mutante. La acumulación de PHAs en estas curvas se determinó por diferentes técnicas: peso seco, tinción de gránulos de PHB con Nile Blue y su observación en microscopio o lupa de fluorescencia, tratamiento con hipoclorito de sodio y relación de turbidez.

Resultados: En curvas de crecimiento realizadas en medio con glucosa 1% como fuente de carbono, se observó una notable reducción de la velocidad de crecimiento de la mutante, así como una reducción del 50% en la densidad máxima alcanzada en fase estacionaria. Se observó que la mutante no es capaz de acumular PHB en cultivos crecidos en glucosa como fuente de carbono, y en cultivos crecidos en glicerol al ser privado de nitrógeno. En cambio, mostró una capacidad prácticamente inalterada de acumular PHB en cultivos crecidos en fenantreno y sometidos a la privación de nitrógeno.

Conclusiones: En conjunto, nuestros resultados indican que la sintasa PhaC1 tiene un rol fundamental en la acumulación de PHB que se produce en cultivos crecidos a expensas de glucosa o glicerol. Pero no cumple un papel esencial en la síntesis de PHAs en cultivos de fenantreno. Adicionalmente, la reducción en la velocidad de crecimiento de la mutante sugiere un rol importante de esta sintasa en la fisiología de este microorganismo.

JU 250

0583 - DISTRIBUCIÓN DEL LOCUS DE ADHERENCIA Y AUTOAGREGACIÓN (LAA) EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORAS DE TOXINA SHIGA (STEC) LEE-NEGATIVAS DE PARAGUAY Y CHILE

VELEZ, María Victoria [1] | COLELLO, Rocío[1] | ETCHEVERRIA, Analia[1] | GUILLÉN FRETESA, Rosa M[2] | TORO, Magaly[3] | VIDAL, Roberto[4] | PADOLA, Nora Lia[1]

CIVETAN-CONICET, FCV-UNCPBA, CICPBA [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN. SAN LORENZO, [2]; INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE, SANTIAGO, CHILE [3]; PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA Y MICOLOGÍA, INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVE [4]

Introducción y Objetivos: STEC está asociado a casos esporádicos de Colitis Hemorrágica (CH) y Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Si bien su principal reservorio es el bovino, también se ha encontrado en medio ambiente, animales domésticos, alimentos, agua, entre otros. Existe un subgrupo capaz de colonizar la mucosa intestinal e inducir una lesión histopatológica de adherencia y borrado del enterocito (A/E). Esta lesión es gobernada por una isla de patogenicidad llamada Locus de borrado del enterocito (LEE). A partir de la presencia o ausencia de este locus se clasifican en STEC LEE-positivas o LEE-negativas. Las cepas LEE-negativas no poseen los genes necesarios para producir la lesión A/E, sin embargo, cepas que carecen de LEE también han sido asociadas a enfermedad severa en el humano. Sin el locus LEE, las cepas deben adherirse al epitelio intestinal utilizando otros mecanismos. Se ha determinado la existencia de una isla de patogenicidad denominada LAA (Locus de adherencia y autoagregación) que en ausencia de LEE, codificaría genes que participan en la adhesión, autoagregación y formación de biofilm. LAA está organizada en 4 módulos, pudiendo presentarse, tanto en forma completa (los 4 módulos- I; II; III y IV) como individual (< a 4 módulos). Es por ello que cuando algún módulo está ausente las cepas son consideradas LAA negativas. Teniendo en cuenta que la incidencia de enfermedad causada por cepas STEC LEE-negativas ha aumentado en varios países, y destacando la importancia de su estudio, el objetivo de este trabajo fue analizar la presencia de LAA en cepas LEE-negativas aisladas de Paraguay y Chile.

Materiales y Métodos: Para ello se analizaron un total de 131 cepas STEC LEE-negativas aisladas de carne, bovinos, quesos y aves silvestres en Paraguay y Chile pertenecientes a los serogrupos: O22; O91; O93; O103; O113; O115; O116; O153; O168; O171; O172; O174; O185; ONT. Para la detección de LAA, las cepas fueron caracterizadas por PCR multiplex para detectar la presencia de los módulos I, II, y III, y una PCR monoplex para la identificación del módulo IV.

Resultados: LAA se detectó en el 42% de las cepas de Paraguay, siendo los mayores porcentajes detectados en cepas pertenecientes a los serogrupos O103 (75%) y ONT (30%). En las cepas de Chile, LAA se detectó en el 41% de los aislamientos, encontrándose los mayores porcentajes en los serogrupos O91 (100%) y O113 (83,3%).

Conclusiones: Este trabajo es el primero que demuestra la distribución de LAA en cepas STEC LEE-negativas aisladas en Chile y Paraguay, detectándose en serogrupos asociados a casos de SUH. Este hallazgo es de importancia ya que esta isla de patogenicidad podría ser un marcador de virulencia en cepas pertenecientes a este grupo bacteriano.

JU 251

0585 - CARACTERIZACIÓN DEL ROL FISIOLÓGICO DE LA ENZIMA FABH EN MICOBACTERIAS: IMPACTO EN LA SÍNTESIS DE LÍPIDOS Y VIABILIDAD

SAVORETTI, Franco | CROTTA ASIS, Agostina | HUGO, Gramajo | GAGO, Gabriela

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR)

Introducción y Objetivos: La tuberculosis es un grave problema de salud a nivel mundial, siendo la novena causa de muerte global y la primera causa de muerte por un único agente infeccioso. El agente causal de la tuberculosis es el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que junto con otras micobacterias comparten la característica de poseer una extensa membrana externa formada principalmente por ácidos micólicos, los cuales son esenciales para la viabilidad y patogénesis. Esta compleja membrana externa está relacionada con la particularidad de poseer dos sintasas de ácidos grasos, FAS-I y FAS-II. Los sistemas FAS están conectados por una enzima condensante clave, FabH, la cual cataliza la condensación decarboxilativa de malonil-ACP con los

C16-18-CoAs producidos por FAS-I. El producto de esta condensación es el sustrato inicial del sistema FAS-II. Nuestra hipótesis de trabajo consiste en que la regulación coordinada de los sistemas FAS I y FAS II es fundamental para la viabilidad y el normal desarrollo del metabolismo de las micobacterias. Si bien hay mucha información sobre la biosíntesis, estructura y función biológica de los lípidos presentes en la envoltura de las micobacterias, se sabe poco acerca de los mecanismos que permiten modular y adaptar la biosíntesis de los componentes de la pared celular en respuesta a cambios en el ambiente. Con el fin de profundizar conocimientos que podrían aportar nuevos y valiosos conceptos en la regulación de la síntesis de ácidos grasos y ácidos micólicos, nos propusimos caracterizar el rol fisiológico de la enzima FabH en micobacterias y analizar su impacto sobre la síntesis de lípidos y viabilidad.

Resultados: Si bien hay estudios bioquímicos sobre la actividad de la enzima FabH de *M. tuberculosis*, no hay análisis genéticos que ayuden a establecer inequívocamente el rol fisiológico de esta enzima. En este trabajo, mediante un doble evento de recombinación se construyó una cepa mutante por deleción del gen putativo *fabH* $msmeg_3953$ de la bacteria *Mycobacterium smegmatis* y se realizó una caracterización fisiológica de la misma. Determinamos que el gen no es esencial para la viabilidad de la bacteria, al menos en las condiciones de crecimiento analizadas. Al estudiar la síntesis de ácidos micólicos mediante la incorporación de [14C]-acetato el resultado no reflejó lo esperado, ya que la cepa mutante no fue deficiente en la síntesis de los mismos. Sin embargo, la cepa mutante presenta algunas diferencias en su comportamiento respecto de la cepa salvaje, como una fase de adaptación más larga en 5 horas, diferente fenotipo de las colonias en medio sólido ante la presencia de los antibióticos cerulenina e isoniacida y diferencias en la síntesis de ácidos micólicos cuando previo al agregado de [14C]-acetato se trata el cultivo con isoniacida.

Conclusiones: Si bien aún no podemos determinar si el gen en estudio posee el rol putativo *fabH* asignado, subsiguientes estudios bioquímicos con la proteína purificada sumarán a la determinación de dicho rol.

JU 252
0586 - ESTUDIO COLABORATIVO DE *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* EN LA ARGENTINA

MORONI, Mirian Patricia [1] | VIÑAS, Maria Rosa[1] | PANAGÓPULO, Marcela[1] | BRENGI, Silvina[1] | ALCAIN, Andrea[1] | CATALANO, Florencia[1] | CAFFER, María Inés[1] | JURQUIZA, Veronica[2]

SERVICIO DE ENTEROBACTERIAS - DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA - INEI ANLIS "DR. CARLOS G MALBRAN" [1]; INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PESQUERO (INIDEP), MAR DEL PLATA [2]

Introducción y Objetivos: *Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria gram negativa halófila, vive naturalmente en ambientes marinos costeros y estuarios de todo el mundo. Puede encontrarse en una gran variedad de alimentos de origen marino, como camarones, moluscos bivalvos y peces, siendo un potencial patógeno para el humano. Su infección puede causar gastroenteritis aguda con cefalea, vómitos, dolor abdominal, infección de heridas y hasta septicemia. El objetivo del estudio fue caracterizar feno-genotípicamente casos humanos y ambientales de *V. parahaemolyticus* de Argentina como parte de la vigilancia integrada.

Materiales y Métodos: En el 2011, el Laboratorio Nacional de Referencia recibió dos aislamientos de *V. parahaemolyticus* provenientes de dos pacientes; uno consumió mariscos en Río de Janeiro, Brasil, y el otro pescado en Mar del Plata, Buenos Aires. Además, el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), que realiza periódicamente el monitoreo de vibrios potencialmente patógenos, seleccionó 45 aislamientos procedentes de muestras de agua, berberechos y mejillones, de la costa Atlántica de Buenos Aires y del Río de la Plata, entre 2008 y 2018. Se realizó la identificación mediante pruebas bioquímicas y la caracterización molecular con la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y Electroforesis en Campo Pulsado (PFGE). Por PCR se confirmó la especie y la presencia de los principales genes de virulencia: hemolisina termoestable directa (TDH) y hemolisina relacionada a TDH (TRH). Por PFGE se estableció la relación genética, según el protocolo de la Red PulseNet, utilizando la enzima de restricción SfiI y NotI. El análisis se realizó con el programa BioNumerics, método UPGMA, Coeficiente de Dice y tolerancia de 1,5%. Los perfiles genéticos obtenidos por PFGE se incorporaron a la Base de Datos Nacional (BDN) de *V. parahaemolyticus*

Resultados: Se determinaron 33 patrones genéticos de PFGE con la enzima de restricción SfiI. El aislamiento de *V. parahaemolyticus* del paciente que denunció haber consumido mariscos en Río de Janeiro (2011) tiene un porcentaje de similitud del 97,14% con respecto a dos aislamientos de berberechos de Mar Azul (2009) y con un aislamiento de agua del Río de la Plata (2017). No hubo similitud genética del aislamiento de *V. parahaemolyticus* del paciente que consumió pescado en Mar del Plata con los del estudio. Por PCR se determinó que los 2 aislamientos de origen humano fueron positivos para TDH y TRH, así como 5 de agua (Río de la Plata 2017) y 1 de berberecho (Mar Azul 2009). No se observó correlación entre los patrones de PFGE y la presencia de genes de virulencia.

Conclusiones: Si bien es conocido el potencial riesgo de contaminación de productos marinos con este patógeno, se cuenta con poca información sobre la ocurrencia de casos en la Argentina. Por tal motivo, es de vital importancia fortalecer la vigilancia en la clínica y en bromatología para evitar su diseminación, como el monitoreo en los alimentos de origen marino.

JU 253

0621 - MUR, UN REGULADOR TRASCRIPCIONAL DE HOMEOSTASIS DE MANGANESO INHIBE LA EXPRESIÓN DE LA ADHESINA BTAE EN *BRUCELLA ABORTUS*

RAMIS, Lila | SYCZ, Gabriela | BIALER, Magalí | ZORREGUIETA, Angeles | SIEIRA, Rodrigo

FUNDACIÓN INSTITUTO LELOIR

Introducción y Objetivos: *Brucella* es el agente causal de la brucelosis, una enfermedad zoonótica que afecta a una amplia variedad de mamíferos. La adhesión inicial de este patógeno intracelular a las células del hospedador constituye un paso crítico en la infección, siendo el autotransportador trimérico BtaE una de las adhesinas relevantes para su virulencia. Análisis previos realizados por nuestro grupo demostraron que VjbR, un regulador transcripcional de tipo *LuxR* esencial para la patogénesis de *Brucella*, se une a un gran número de promotores y regula la expresión de distintos factores de virulencia incluyendo al gen *bta*E. Por medio de análisis bioinformáticos, recientemente identificamos una secuencia altamente conservada adyacente al motivo de unión de VjbR en numerosos promotores. Dicha secuencia presenta similitud con sitios de unión para factores de transcripción de la familia Fur (ferric uptake regulator). El objetivo principal del presente trabajo consistió en analizar la posible funcionalidad de dicha secuencia y su influencia en la expresión de *Bta*E.

Materiales y Métodos: Se analizó la actividad promotora de btaE mediante ensayos de "beta"-galactosidasa con fusiones transcripcionales a lacZ. Para estudiar la expresión de la adhesina se realizó Western blot contra la proteína BtaE etiquetada con 3xflag, bajo condiciones que imitan el ambiente intracelular que Brucella encuentra en células fagocíticas del hospedador. Para identificar posibles reguladores de la familia FUR involucrados en la regulación de btaE, se analizó la actividad promotora en cepas mutantes para distintos reguladores de homeostasis de metales (irr, rirA y mur) en presencia o ausencia de distintos metales.

Resultados: Se observó que la expresión de la adhesina se encuentra regulada en forma negativa y selectiva por manganeso y hierro, tanto transcripcionalmente como a nivel proteína. Al realizar los ensayos de "beta"-galactosidasa con las diferentes mutantes se observó ausencia del efecto del hierro sobre la expresión de *bta*E en la mutante mur.

Conclusiones: Parte de la respuesta del hospedador frente al ingreso de un patógeno involucra un proceso llamado inmunidad nutricional, que consiste en secuestrar metales esenciales y disminuir su disponibilidad para el microorganismo invasor. Nuestros resultados demuestran que la expresión de la adhesina trimérica btaE se encuentra regulada de modo metal dependiente a través del factor transcripcional Mur en condiciones que imitan el ambiente intracelular de Brucella, donde los nutrientes son escasos y el pH es ácido. Al igual que lo observado en otros géneros bacterianos, el factor Mur de Brucella es capaz de responder tanto a Fe como a Mn. Estos resultados constituyen una evidencia a favor de que Brucella es capaz de responder a situaciones de estrés por ausencia o de toxicidad por exceso de metales específicos en el interior del hospedador mediante cambios en la expresión de adhesinas de superficie.

JU 254

0061 - EL SISTEMA DE SECRECIÓN DE TIPO VI PERMITE LA SUPERVIVENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 EN MACRÓFAGOS MURINOS

RIVIERE, Nahuel | MARQUES DA SILVA, Wanderson | CATALDI, Angel | LARZABAL, Mariano

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA

Introducción y Objetivos: El sistema de secreción de tipo VI (SST6) se ha propagado ampliamente en bacterias Gram negativas como Escherichia coli enterohemorrágico (EHEC) O157:H7. Este sistema de secreción atraviesa la doble membrana bacteriana permitiendo que los factores de virulencia sean translocados directamente desde el citoplasma de la bacteria hacia la célula blanco. El SST6 posee 13 componentes esenciales conservados, entre ellos se encuentra la proteína TssB (componente de la cola retráctil). Durante la infección, EHEC O157:H7 coloniza regiones intestinales asociadas a los folículos donde se encuentran componentes del sistema inmune innato, principalmente macrófagos. Estos macrófagos fagocitan las bacterias EHEC O157:H7 adheridas al epitelio e inducen la producción y liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) para eliminarlas. Estudios recientes demostraron que EHEC es capaz de sobrevivir y de replicar dentro de los macrófagos luego 24 hs de ser fagocitado. Se estableció como objetivo evaluar si el SST6 de la cepa EHEC O157:H7 permite la supervivencia intracelular en macrófagos murinos.

Materiales y Métodos: Se obtuvo una cepa EHEC O157:H7 mutante para el gen tssB por la metodología de CRISPR/Cas9. Se realizaron ensayos de supervivencia infectando monocapas de macrófagos murinos (RAW264.7) con las cepas EHEC O157:H7 salvaje y delta tssB (MOI 100). Luego de 30 minutos de infección, los macrófagos fueron lavados tres veces con PBS y posteriormente fue agregado medio DMEM fresco conteniendo 100 µg/ml del antibiótico gentamicina para eliminar las bacterias no fagocitadas. La placa se incubó durante 24

hs a 37°C en una atmosfera de 5% de CO_2. Luego los macrófagos fueron lisados con una solución de SDS al 0.025% para liberar las bacterias internalizadas. Se realizaron diluciones seriadas para los diferentes tiempos postinfección (2 y 24 hs) y fueron plaqueadas en LB agar donde se cuantificaron las bacterias fagocitadas viables. El ensayo fue realizado por triplicado.

Resultados: Mediante la técnica de CRISPR/Cas9 se obtuvo una cepa EHEC O157:H7 mutante para el gen tssB. La cepa EHEC O157:H7 delta tssB fue evaluada en ensayos de sobrevida en macrófagos. Se pudo demostrar que no hay diferencias significativas entre la cantidad inicial de bacteria salvaje y mutante del SST6 fagocitadas a las 2 hs de incubación. Sin embargo, se observó una diferencia significativa al cuantificar un 86 % menos de sobrevida de bacterias mutantes para el SST6 luego de 24 hs de incubación en comparación con la cepa salvaje.

Conclusiones: La obtención de la cepa EHEC O157:H7 defectiva para el SST6 nos permitió evaluar la relación entre dicho sistema de secreción y la sobrevida de la bacteria en macrófagos. La cepa EHEC O157:H7 delta tssB demostró una menor sobrevida al ser fagocitada por macrófagos. Estos resultados sugieren que la sobrevida de EHEC O157:H7 en el macrófago es dependiente de un SST6 funcional.

JU 255

0096 - DIVERSIDAD GENÉTICA DE *ESCHERICHIA COLI* VEROTOXIGÉNICO O157:H7 PROVENIENTE DE CASOS CLÍNICOS DE ARGENTINA Y CHILE

GONZÁLEZ, Juliana [1] | CADONA, Jimena Soledad[2] | ZOTTA, Marcelo[3] | LAVAYÉN, Silvina[3] | VIDAL, Roberto[4] | PADOLA, Nora Lia[2] | SANSO, Andrea Mariel[2]| BUSTAMANTE, Ana Victoria[2]

LAB. MICROBIOLOGÍA ALIMENTOS - LAB. INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA. [1]; LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA, CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA [2]; SERVICIO BACTERIOLOGÍA, INE "DR. JUAN H. JARA" - ANLIS, MINISTERIO DE SALUD DE LA NACIÓN ARGENTINA. [3]; PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA Y MICOLOGÍA, INSTITUTO CS. BIOMÉDICAS, FC. MEDICINA, UNIVERSIDAD CHILE [4]

Introducción y Objetivos: *Escherichia coli* verotoxigénico (VTEC) es un grupo de patógenos emergentes causante de severas enfermedades en el hombre, tales como el síndrome urémico hemolítico (SUH). Al igual que en muchas partes del mundo, VTEC O157:H7 es el principal serotipo asociado a las infecciones humanas, con un número significativo de casos de SUH registrados en Argentina y Chile. Se ha observado una amplia variabilidad en cuanto a la presentación clínica de pacientes con infecciones por O157:H7. Los estudios de comparación genómica junto con la evaluación de genes que codifican factores de virulencia representan herramientas útiles para analizar la diversidad genética y subtipificar VTEC O157:H7. El objetivo del presente trabajo fue comparar la diversidad genética presente en 76 cepas VTEC O157:H7 aisladas de casos de enfermedad en humanos de Argentina (n=38) y Chile (n=38).

Materiales y Métodos: Las cepas se subtipificaron mediante el análisis de polimorfismos específicos de linaje (LSPA-6), la asignación a filogrupos y el estudio de la distribución de genes codificantes de 5 factores de virulencia, de 16 efectores no codificados en LEE (Nle) y de 6 factores putativos de virulencia (FPV).

Resultados: Los aislamientos VTEC O157:H7 pertenecientes al linaje I/II y al filogrupo E fueron prevalentes en ambos países. En cuanto a la diversidad genética detectada mediante el estudio de diferentes factores de virulencia, la mayoría de las cepas estudiadas (97,4 %) presentó el perfil de virulencia *vtx*$_2$, *eae*, *ehyA*, y solo dos cepas argentinas tuvieron distinto perfil. Se encontró una alta prevalencia de genes *nle*, los cuales codifican proteínas efectoras, presentando la mayoría de las cepas (87 %), independientemente del origen, perfil completo. En relación a los genes de FPV, se detectaron 15 perfiles, de los cuales sólo 4 fueron compartidos por cepas de ambos países. Todas las cepas presentaron ECSP-3620, ECSP-1773 fue el gen menos prevalente (18 % en Argentina y 26 % en Chile), mientras que ECSP-2687 prevaleció en el grupo de cepas de Argentina (89 %).

Conclusiones: Nuestros resultados muestran la circulación casi exclusiva, en ambos países, de aislamientos VTEC O157:H7 del linaje intermedio I/II, asociado a cepas hipervirulentas, y al filogrupo E y, por otro lado, diversidad genética presente entre las cepas de Argentina y Chile, principalmente en relación a perfiles de FPV, dando cuenta de la importancia del análisis en conjunto de múltiples marcadores moleculares.

JU 257

1015 - LA REGULACION NEGATIVA DE *AGR* MEDIADA POR ACIDO SALICILICO IMPIDE LA DISPERSION DE LA BIOPELICULA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

DOTTO, Cristian [1] | LOMBARTE SERRAT, Andrea[2] | SORDELLI, Daniel[2] | BUZZOLA, Fernanda[2]

INGEBI [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (UBA-CONICET) [2]

Introducción y Objetivos: S. aureus es un patógeno que posee la capacidad de formar biopelículas sobre diferentes superficies. El sistema agr impacta en la dispersión de la biopelícula al activar la expresión de factores disgregantes como proteasas extracelulares, d-hemolisinas (codificada por el efector del sistema, RNAIII) y modulinas solubles en fenol (PSM). El factor transcripcional AgrA (codificado en el locus agr) no sólo induce su propia expresión y la de todo el sistema agr, sino también la de psma y psmß. El ácido salicílico (SAL), biometabolito formado tras la ingesta de aspirina, es capaz de modificar la virulencia de distintas especies bacterianas y de interaccionar con factores de transcripción. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del SAL sobre agr y su impacto en la biopelícula de S. aureus.

Materiales y Métodos: El estudio de acoplamiento molecular entre el dominio LytR de AgrA (PDB: 3BS1) y el SAL se realizó con los programas AutoDock4 y AutoDock Vina. Las simulaciones de dinámica molecular se realizaron con el módulo Particle Mesh Ewald Molecular Dynamics. Los niveles transcripcionales de los genes RNAIII, psma, psmß, agrA y agrC se cuantificaron por retrotranscripción seguida de PCR de tiempo real, en biopelículas expuestas a 2 mM de SAL. Las biopelículas se tiñeron con cristal violeta y cuantificaron por espectrofotometría. Las actividades proteolíticas y hemolíticas se cuantificaron midiendo el diámetro de los halos formados luego de 18 hs de incubación a 37ºC de placas TSA suplementadas con leche o sangre de carnero, respectivamente, sembradas con sobrenadantes de biopelículas maduras.

Resultados: El estudio in silico sugiere que el SAL interaccionaría con AgrA en cuatro sitios, siendo el sitio 1 el de mayor afinidad (-4,30 kcal/mol). Los estudios de dinámica molecular, indicaron que el SAL ocuparía el sitio 4 con mayor frecuencia. Se determinaron niveles significativamente bajos de los principales transcriptos del sistema (agrA, agrC y RNAIII) y de psm en presencia de SAL. El SAL disminuyó la producción de d-hemolisinas (3,33mm±0,17 vs 2,17mm±0,17; $p<0,05$ t test) y de proteasas extracelulares en biopelículas maduras de S. aureus (7,7mm±0,2 vs 4,5mm±1,2; $p<0,05$ t test) indicando que la actividad del sistema agr fue afectada negativamente. Se determinó que la mutante agr formó mayor biopelícula respecto a la cepa salvaje Newman (Aagr 1,19 vs Awt 0,46; $p<0,05$). El SAL impidió la dispersión de la biopelícula madura de la cepa salvaje y no alteró la producción de biopelícula en la mutante agr siendo ésta semejante a la observada cuando la cepa Newman se trató con SAL, evidenciando que el SAL ejerce un efecto sobre agr.

Conclusiones: En conclusión, el SAL impidió la dispersión de la biopelícula de S. aureus al disminuir la expresión del sistema agr, posiblemente a través de un impedimento estérico entre AgrA y sus secuencias blanco. La atenuación en la expresión del sistema agr podría evitar la diseminación de las bacterias desde la biopelícula hacia otros sitios del hospedador.

JU 258

0672 - IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS SUPERÓXIDO DISMUTASAS EN AISLAMIENTOS ALTOANDINOS DEL GÉNERO *ACINETOBACTER*

STEIMBRUCH, Bruno | SARTORIO, Mariana | DI CAPUA, Cecilia | REPIZO, Guillermo | CORTEZ, Nestor

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO IBR (CONICET & UNR)

Introducción y Objetivos: Las Lagunas de Altura de la Puna Andina (LAPA´s) se encuentran en el noroeste de Argentina y se caracterizan por estar expuestas a una alta intensidad de radiación UV, amplias fluctuaciones térmicas y por presencia de metales pesados como arsénico. Acinetobacter sp. Ver3 es un poliextremófilo aislado de las LAPA´s que presenta resistencia a la radiación UV y a pro-oxidantes como H2O2 y metilviológeno (MV).El análisis del genoma secuenciado de Ver3 reveló la existencia de dos genes codificantes para actividad superóxido dismutasa (SOD): una citosólica de tipo Fe/Mn (SodB) y otra de tipo Cu/Zn (SodC) que posee un péptido señal de direccionamiento a periplasma.

Materiales y Métodos: Los genes codificantes para SODs de tipo Fe/Mn (*sodb*) y CuZn (*sodc*) de A. ver3 fueron amplificados por PCR y clonados en vectores de expresión de la serie pET para la posterior caracterización de las proteínas recombinantes. Para evaluar el contenido de metal de FeMnSOD, se realizaron medidas por ICP-MS en LB y BM2 junto con ensayos de inhibición con H2O2 . Mediante el uso de anticuerpos policlonales se evaluó la expresión de sodb en respuesta a diferentes condiciones de estrés. El gen *sodc* junto con su región promotora fue amplificado por PCR y posteriormente clonado en el vector pMBLe. Para evaluar su respuesta frente a agentes prooxidanes mediante recuento de UFC, se utilizó como modelo de estudio cepas *A. baylyi* ADP1 transformadas con pMBLeSOD. Las mismas fueron crecidas en LB hasta alcanzar una DO de 0.6 para luego ser tratadas con agentes prooxidantes como MV, H2O2 y Riboflavina + TEMED como agente generador de O2- en presencia de luz.

Resultados: Si bien estudios filogenéticos ubican a SodB dentro del grupo de las SODs de tipo Fe, las medidas de contenido metálico en la proteína recombiante. por ICP-MS de indicaron que el contenido de Mn++ aumenta considerablemente si este se suplementa a BM2 con el metal, sugiriendo así que se trata de una SOD de tipo cambialística. El gen sodC conteniendo 300 pb corriente arriba fue amplificado por PCR y clonado en el vector pMBle replicativo para *Acinetobacter*, obteniéndose el plasmido pMSodC. Células de *A. baylyi* ADP1 transformadas con pMSodC se hicieron crecer en LB y fueron tratadas con MV, H2O2 y Riboflavina + TEMED, siendo este último un agente generador de O2-; extracelular en presencia de luz. ADP1 transformada con

pMSodC presento un mayor desarrollo con respecto a la cepa control frente al agregado de Riboflavina + TEMED indiacando la función de SodC en la defensa frente al superóxido extracelular.

Conclusiones: Acinetobacter sp. Ver3 posee dos superóxido dismutasas (SODs). Una enzima es del tipo Fe/Mn y posee carácter cambialístico, modificando su contenido metálico en función de la oferta del medio de cultivo. Funciona detoxificando el superóxido intracelular subproducto de la respiración aeróbica. La otra SOD es del tipo Cu.Zn y de localización periplásmica. Su función detoxificadora es manifiesta ante la presencia de superóxido extracelular. La presencia de SodC en *A. baylyi* ADP1 otorga a la célula huésped una mayor velocidad de crecimiento en aerobiosis.

SAMIGE - Biorremediación y Biocontrol

JU 259

0859 - MECANISMOS DE TOLERANCIA A METALES PESADOS EN BACTERIAS POLIEXTREMÓFILAS AISLADAS DE ESTROMATOLITOS VIVOS EN LA PUNA ANDINA

BARRIENTOS AVILA, Lia Marisel[1] | ALBARRACÍN, Virginia Helena[2] | FARIAS, María Eugenia[1] | **ORDOÑEZ, Omar Federico** [1]

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. [1]; CENTRO DE INVESTIGACIONES Y SERVICIOS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA (CISME), CCT-CONICET. [2]

Introducción y Objetivos: El creciente contenido de compuestos de metales pesados y metaloides como contaminantes antropogénicos, especialmente de las especies Cr (VI), Cd (II), Cu (II), Pb (II), Ni (II), Co (II) y As (III, V) se ha convertido en un problema grave debido a su toxicidad hacia los organismos vivos. Estos compuestos deben eliminarse mediante tratamientos eficientes. La biosorción de metales pesados por microorganismos es un proceso efectivo y ecológicamente seguro para retirar o inmovilizar iones en medio líquido o sólido. El análisis genómico de las cepas Exiguobacterium sp. S17 y Salinivibrio sp. S34, aisladas a partir de estromatolitos en Laguna Socompa Salta, Argentina (3.570 m.a.s.l.), mostró una amplia variedad de genes de resistencia a diferentes metales pesados y metaloides. Por lo tanto estos microorganismos son excelentes candidatos para estudios de remoción de metaloides y metales pesados de ambiente contaminados. En este trabajo se estudió la respuesta de S17 y S34 frente a metales pesados y metaloides estudiando los mecanismos involucrados en dicha resistencia y la presencia de eventos de adsorción, bioacumulación o bioespeciación con el fin de proponer su utilización en procesos de remediación de metaloides y/o metales pesados.

Materiales y Métodos: La tolerancia frente a Cr, Cd, Co y As se evaluó en medio LB y MGM (sólido y líquido). Posteriormente sé estudio el crecimiento celular con y sin la adición de Cr(VI) al medio y la capacidad de reducción de Cr(VI) mediante la técnica colorimétrica de 1, 5-Diphenylcarbazide. La concentración de Cr total se analizó por espectroscopia de absorción atómica a las 24, 48 y 72hs.

Resultados: Ambas cepas crecieron en presencia de los metales ensayados, se observó mejor respuesta por parte de la cepa S34 [Cr(5mM), As (5mM), Cd (1.5mM) y Cu (20mM)] respecto a S17 [Cr (4mM), As (5mM), Cd (0,14mM) y Cu(24mM)]. El crecimiento celular no fue afectado por la adición de Cr al medio en S34, mientras que S17 disminuyo su crecimiento por abajo del 50%. El análisis de los resultados mostró que ambas cepas presentaron excelentes perfiles para la remoción de Cr(VI) durante las 72hs de cultivo. Se observaron valores de remoción del metal presente en el medio de entre 60-80% en S34 y del 45-55% en S17. Cuando se analizó Cr total en los sobrenadantes, este prácticamente se mantuvo constante durante todo el cultivo. En los ensayos no se observó cambios en la concentración de Cr(VI) para los controles abióticos.

Conclusiones: Podemos inferir que el mecanismo de resistencia a Cr(VI) involucrado en las cepas de altura, estaría principalmente ligado a procesos de bioespeciacion de Cr(VI), mediante la reducción del metal a su especie menos tóxica Cr(III) y no a la bioacumulación en las células. Estos son los primeros avances realizados en nuestro grupo enfocados en la aplicación directa de microorganismos extremofilos en estrategias de remediación de metales pesados.

Presentaciones Orales

Presentaciones orales SAMIGE 3

Fisiología Microbiana, Microbiología Molecular, Interacción Procariota- Eucariota, Biotecnología y Fermentaciones.

Viernes 27 de septiembre
15:00 – 16:30 h
Sala E

SAMIGE - Fisiología Microbiana

Oral SAMIGE VI 1

0607 - ROL DE TBLIPL, PUTATIVA LIPOATO LIGASA DE *TRYPANOSOMA BRUCEI*, EN LA MODIFICACION POSTRADUCCIONAL DE PROTEINAS

SCATTOLINI, Albertina | VACCHINA, Paola | UTTARO, Antonio D. | MANSILLA, Cecilia

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos: El ácido lipoico (AL) es un compuesto ampliamente distribuido en la naturaleza, requerido para el funcionamiento de complejos multienzimáticos involucrados en el metabolismo oxidativo y de un carbono. La lipoilación de proteínas ha sido exhaustivamente caracterizada en bacterias, donde existen vías de síntesis y de utilización de AL exógeno. La bacteria modelo Gram positiva *Bacillus subtilis* requiere de cuatro proteínas para la síntesis de AL: la octanoiltransferasa LipM transfiere la porción octanoílo desde ACP a GcvH; la lipoato sintasa, LipA, inserta los átomos de azufre y luego la amidotransferasa LipL transfiere el residuo lipoílo a los restantes complejos enzimáticos. *B. subtilis* también es capaz de utilizar AL exógeno, mediante la acción conjunta de la lipoato ligasa LplJ y LipL. En proteobacterias las vías son más sencillas, con una octanoiltransferasa (LipB) y una lipoato ligasa (LplA) que tienen como sustrato a todas las apoproteínas. En contraste, la información relativa a eucariotas es aún fragmentaria. Dado que la interferencia de la vía de síntesis de AL podría ser un potencial blanco quimioterapéutico contra parásitos como *Trypanosoma cruzi* o *T. brucei*, donde los tratamientos disponibles son poco efectivos y generalmente tóxicos, nos propusimos identificar las enzimas implicadas en la lipoilación de proteínas de tripanosomátidos.

Resultados: Mediante análisis del genoma de *T. brucei* se identificó el locus Tb927.8.630, cuya secuencia de aminoácidos presenta homología con lipoato ligasas y amidotransferasas de bacterias y levaduras. Para caracterizar funcionalmente esta enzima (TbLipL), dicho gen se expresó bajo el control de un promotor inducible por xilosa en mutantes de B. subtilis deficientes en diferentes pasos de la vía de síntesis y captación de AL. No se observó complementación funcional de mutantes lipM, indicando que no posee actividad octanoiltransferasa, ni de la doble mutante lipM-lplJ, aún en presencia de AL, descartando actividad lipoato ligasa. Por el contrario, se observó la complementación funcional del crecimiento de una mutante lipL, lo que se correspondió con el restablecimiento del patrón de lipoilación proteica analizado mediante ensayos de Western Blot con anticuerpos anti-AL. La expresión de TbLlipL en una mutante gcvH no restauró su crecimiento en placas de medio mínimo ni el patrón de lipoilación proteica, sugiriendo que GcvH es sustrato de la reacción de transamidación. Por último, al expresar TbLipL en una mutante lipL-gcvH se restableció parcialmente el crecimiento de esta cepa en medio mínimo suplementado con AL. Esto indica que, al igual que la amidotransferasa de B. subtilis, esta enzima podría usar la subunidad E2 lipoilada de la oxoglutarato deshidrogenasa como sustrato para la transferencia a las restantes subunidades E2.

Conclusiones: Estos resultados indican que TbLipL es una amidotransferasa, y que *T. brucei* presenta una vía de lipoilación endógena del tipo "lipoyl-relay", como la descripta en *B. subtilis* y levaduras.

Oral SAMIGE VI 2

0658 - ACIL-COA CARBOXILASAS HOMOMÉRICAS BACTERIANAS: EFECTO EN LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *SACCHAROPOLYSPORA ERYTHRAEA* Y *RHODOCOCCUS JOSTII*.

LIVIERI, Andrea Lourdes [1] | HERNANDEZ, Martin[2] | ALVAREZ, Hector[2] | GRAMAJO, Hugo[1] | RODRIGUEZ, Eduardo[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR) [1]; INSTITUTO DE BIOCIENCIAS DE LA PATAGONIA (INBIOP), UNPSJB, CONICET. [2]

Introducción y Objetivos: Las bacterias pertenecientes al orden de los *Actinomycetes* presentan diferentes características que las hacen atractivas para ser usadas en diversos procesos industriales. Algunos géneros de este grupo poseen la capacidad de generar una gran diversidad de metabolitos secundarios, de interés

farmacéutico, como antibióticos, entre otros. Otras especies conocidas como oleaginosas son capaces de acumular grandes cantidades de triacilglicéridos (TAGs), de interés para la industria oleoquímica y de biocombustibles. A pesar de las diferencias estructurales de todos estos compuestos, tanto para la producción de metabolitos secundarios de tipo policetónicos como para la acumulación de ácidos grasos o TAGs, se requieren de precursores del metabolismo primario como malonil-CoA y metilmalonil-CoA, productos de la carboxilación de acetil-CoA y propionil-CoA, respectivamente por enzimas acil-CoA carboxilasas (YCC). Las YCC son enzimas que pertenecen a la familia de las carboxilasas dependientes de biotina. Estas enzimas esta compuestas por tres dominios catalíticos principales y algunos dominios no catalíticos. Dependiendo del organismo, estos dominios pueden ser parte una misma cadena polipeptídica (complejos homoméricos) o pueden estar codificados por subunidades individuales (complejos heteroméricos). Recientemente hemos caracterizado $SACE_4237$ de *SACCHAROPOLYSPORA ERYTHRAEA* como la primer YCC homodimérica esencial de bacterias cuyo rol principal es actuar como una acetil-CoA carboxilasa generando el malonil-CoA para la síntesis de ácidos grasos. Asimismo, estudios bioinformáticos permitieron identificar numerosas proteínas ortólogas a $SACE_4237$ en diferentes géneros de *Actinomycetes* de importancia industrial. Por ejemplo, *RHODOCOCCUS JOSTII* RHA1, un organismo modelo de bacterias oleaginosas contiene el ortólogo RO_{04222}. Con el objetivo de dilucidar si estos complejos homoméricos, $SACE_4237$ y RO_{04222}, participan en la provisión de precursores para la producción de metabolitos secundarios en *S. ERYTHRAEA* y *R. JOSTII*, respectivamente, construimos cepas que sobreexpresan dichas proteínas o cepas mutantes nulas en los respectivos genes.

Resultados: En el caso de *S. ERYTHRAEA*, la sobreexpresión de $SACE_4237$ genera aumento en la producción de flavolina (producido a partir de malonil-CoA) mientras que la producción de eritromicina disminuye (producido a partir de metilmalonil-CoA). Por otro lado, la sobreexpresión de RO_{04222} no produce un efecto marcado en la acumulación de TAGs en R. JOSTII. Estudios realizados sobre la mutante nula, demuestran que RO_{04222} no es esencial para el crecimiento de R. JOSTII a diferencia de lo observado en S. ERYTHRAEA. Además, la cepa que no expresa RO_{04222} muestra un leve defecto en la producción de ácidos grasos libres, mono-, di- y triacilglicéridos respecto de la cepa parental.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que, a pesar de ser proteínas ortólogas, su función fisiológica es diferente en cada microorganismo.

SAMIGE - Microbiología Molecular

Oral SAMIGE VI 3

0105 - ESTRATEGIAS PARA LA EXHIBICIÓN DE PROTEÍNAS HETERÓLOGAS SOBRE LA SUPERFICIE DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS USANDO COMO CARRIER EL DOMINIO CT DE SLPA DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

GORDILLO, Tania [1] | PALUMBO, Miranda Clara[1] | FINA MARTIN, Joaquina[2] | ALLIEVI, Mariana[2] | BOCKOR, Sabrina[1] | RUZAL, Sandra[2] | PALOMINO, María Mercedes[2]

DEPARTAMENTO QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA [1]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Las proteínas S-layer de *L. acidophilus* forman un rearreglo cristalino de muy alta densidad unido a la pared celular de manera no covalente. SlpA, proteína S-layer predominante de *L. acidophilus* presenta dos dominios bien definidos: el NT, de interacción con el ambiente celular externo; y el CT, responsable del anclado a la superficie bacteriana. Por otro lado las Bacterias Ácido Lácticas, por su status GRAS y porque muchas de ellas son especies con reconocidas características probióticas se han convertido en excelentes candidatos para ser usados como vehículos vivos de antígenos y proteínas bioactivas a nivel de mucosas con fines terapéuticos. Este trabajo tiene como objetivo principal evaluar la capacidad de anclado de la proteína SlpA de *L. acidophilus* para la presentación en superficie de proteínas heterólogas en BAL y su estabilidad y viabilidad celular frente a condiciones gastrointestinales.

Materiales y Métodos: Para esto se ha producido de manera heteróloga el dominio CT de SlpA fusionado a GFP en *Escherichia coli*, construcción denominada GFP-CTSlpA. Se han evaluado distintas especies de *Lactobacillus* para ser decoradas con la proteína carrier. También se han estudiado distintas estrategias de crecimiento para optimizar el binding de GFP-CTSlpA: células decapadas con LiCl 5M, NaCl 5M y células precrecidas en NaCl 0.5 y 0.6 M. El ensayo de binding consiste en crecer las células hasta fase estacionaria, realizar el decapado de S-layer y ajustar la DO 600nm a 1. Alícuotas de 300 µl de cultivo bacteriano son incubadas con 10 µg de GFP-CT SlpA por 60 min. 37 ºC. Finalmente se cuantifica el binding con la proteína de fusión a través de microscopía de fluorescencia y técnicas de citometría de flujo. Hallado el mejor vehículo celular y la condición que garantice el mayor binding, se evaluó la estabilidad del mismo frente a condiciones gastrointestinales: estabilidad a pH ácido, sales biliares y pancreatina.

Resultados: De las BAL estudiadas, el mejor vehículo celular resultó *L. acidophilus* previamente decapado con LiCl. Cuando este mismo microorganismo es precrecido en condiciones de estrés osmótico y además decapado con NaCl se logra una retención de la proteína recombinante del 50 % y 70 % respectivamente. En cuanto a la estabilidad del binding frente a condiciones gastrointestinales, se obtuvo una retención del 50% luego de la

incubación a pH 3 y una retención superior del 60 % post incubación con sales biliares y pancreatina. En la viabilidad a condiciones de pH ácido (pH3) se ha visto una mayor tolerancia en células decoradas con la proteína GFP-CTSlpA ($1x10^7$ UFC/ml) respecto de células decapadas ($1.5x\ 10^5$ UFC/ml).

Conclusiones: Estos resultados demuestran que *L. acidophilus* es un buen candidato para exponer en superficie proteínas o epitopes antigénicos a través del dominio CT de SlpA, demostrando además una estabilidad de la proteína expuesta cuando el microorganismo es sometido a condiciones de estrés propias del ambiente gastrointestinal.

Oral SAMIGE VI 4

0221 - EFECTO INHIBITORIO DE LOS ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS DE CADENA LARGA SOBRE LA CAPACIDAD DE VIRULENCIA DE *SALMONELLA ENTERICA* ACTUANDO COMO LIGANDOS DE SEÑALIZACIÓN DE PHOQ

CARABAJAL, María Ayelén [1] | VIARENGO, Gastón[1] | YIM, Lucía[2] | MARISCOTTI, Javier Fernando[1] | CHABALGOITY, José[1] | RASIA, Rodolfo[1] | GARCÍA VÉSCOVI, Eleonora[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO [1]; DEPARTAMENTO DE DESARROLLO BIOTECNOLÓGICO, INSTITUTO DE HIGIENE, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA URUGUAY [2]

Introducción y Objetivos: *Salmonella enterica* es el causal más frecuente de infecciones zoonóticas y transmitidas por alimentos, causan en la población humana un registro estimado de 20 millones de casos sistémicos y 200.000 muertes anuales en el mundo. Nuestro conocimiento acerca del sistema de dos componentes PhoP/PhoQ de *S. enterica*, y su relevancia en la capacidad patogénica bacteriana, nos permitió proponer al sistema de transducción de señales PhoP/PhoQ como un blanco clave para la identificación de compuestos con potencial farmacológico, que bloqueen la capacidad infectiva del patógeno. En base a esa propuesta y a partir de una estrategia de rastreo bioguiado de una biblioteca de compuestos de origen vegetal, determinamos que los ácidos grasos insaturados de cadena larga de configuración *cis* (*cis*-LCUFAs) constituyen una señal que modula la actividad del sistema PhoP/PhoQ. Más aún, determinamos que estos compuestos ejercen su efecto inhibiendo la actividad autoquinasa del sensor de membrana interna PhoQ y, en consecuencia, regulan negativamente la expresión de los genes del regulón PhoP. En base a estos resultados, nos planteamos como objetivo determinar el mecanismo de acción por el cual los LCUFAs inhiben la actividad autoquinasa de la histidina-quinasa PhoQ.

Materiales y Métodos: Se realizaron medidas de actividad ß-galactosidasa utilizando fusiones del gen lacZ a promotores de genes regulados por PhoP y ensayos de actividad de autofosforilación (actividad autoquinasa) de PhoQ, en presencia de ácido linoleico (*cis*-LA) y sus isómero geométrico (*trans*-LA y CLA). Para determinar si los LCUFAs interaccionan especificamente con el dominio sensor de PhoQ, se llevaron a cabo ensayos de Thermal Shift y NMR-HSQC con el dominio periplásmico de PhoQ purificado, PhoQp, en presencia de *cis*-LA y sus isómeros geométricos. Por otro lado, utilizando un modelo murino, previamente tratados con estreptomicina, analizamos el efecto del consumo LCUFAs en el desarrollo de la enterocolitis por *S. enterica*.

Resultados: En este trabajo establecimos que el agregado de *trans*-LA o CLA al medio de crecimiento provocan un efecto inhibitorio sobre el regulón PhoP al igual que lo previamente reportado para *cis*-LA. Además, los resultados obtenidos mediante técnica de Thermal Shift y NMR-HSQC, nos permiten postular que los LCUFAs modulan conformacionalmente el dominio sensor de PhoQ, y de esta manera inhiben su actividad autoquinasa, afectando negativamente la expresión de los genes PhoP-regulados. Finalmente, los resultados obtenidos en el modelo en ratones sugieren que los LCUFAs inhiben la expresión de los genes del regulón PhoP durante la etapa de infección intestinal.

Conclusiones: En suma, estos resultados nos permiten dilucidar el mecanismo de acción de los LCUFAs y su relevancia en el proceso de colonización de *Salmonella* dentro del hospedador.

Oral SAMIGE VI 5

0647 - BÚSQUEDA DE DETERMINANTES DE RECONOCIMIENTO ENTRE HISTIDINA QUINASAS Y REGULADORES DE RESPUESTA HOMÓLOGOS DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

FERNANDEZ, Pilar [1] | RÉ, María Florencia[1] | DÍAZ, Alejandra R.[2] | DE MENDOZA, Diego[1] | MANSILLA, Cecilia[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR) [1]; DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA - UNS - BAHÍA BLANCA [2]

Introducción y Objetivos: Los sistemas de dos componentes (SDC) son vías de transducción de señales ampliamente distribuidos en bacterias. Están conformados por una histidina quinasa sensora (HQ) que cumple la función de percibir una señal externa y transmitirla al interior celular, y un regulador de respuesta (RR). La vía Des de *Bacillus subtilis* es un sistema de adaptación a bajas temperaturas, ampliamente estudiado en nuestro laboratorio, compuesta por la HQ DesK y el RR DesR. DesK percibe por medio sus segmentos transmembrana el descenso de la temperatura de crecimiento por debajo de los 25°C y se autofosforila. Posteriormente transfiere el fosfato a DesR y éste entonces se une al promotor Pdes, induciendo la transcripción del gen que codifica para una delta5-desaturasa. Hemos identificado en B. subtilis un SDC homólogo a DesK-DesR formado por la HQ YvfT y el RR YvfU. Este sistema regula la transcripción de dos genes, ubicados corriente arriba del mismo, que codifican para un putativo transportador ABC. Esta organización cromosomal se encuentra conservada en Firmicutes, incluyendo numerosas especies patógenas. La transcripción de estos genes también depende de temperatura y su región promotora está altamente conservada, conteniendo secuencias similares a las cajas de unión a DesR identificadas en Pdes. En estudios anteriores hemos determinado que las quinasas BA5598 de Bacillus anthracis y SA1313 de *Saphylococcus aureus* son capaces de reconocer a DesR in vivo, mientras que YvfT no lo reconoce. El objetivo de este trabajo consistió en probar in vitro la capacidad de autofosforilación de las HQs y de fosfotransferencia a su propio RR o cruzada con DesR. Además, nos planteamos identificar los aminoácidos involucrados en la interacción entre quinasas y reguladores.

Resultados: Para este fin purificamos los dominios citoplasmáticos de las HQ y RR fusionados a colas de histidina, mediante cromatografía de afinidad. Mediante la reacción con ATP[^{3}2P] y separación en SDS-PAGE pudimos demostrar la autofosforilación de las HQ BA5598, SA1313 e YvfT y la posterior fosfotransferencia a los RR BA5597, SA1314 e YvfU respectivamente. Además, demostramos que las HQ que provienen de otras especies presentan fosforilación cruzada con DesR mientras que YvfT, que se encuentra en la misma especie, no lo fosforila. Mediante modelados moleculares generados a partir de las estructuras cristalográficas de DesKC y DesR realizamos una comparación de las interacciones entre HQ ortólogas y DesR, logrando identificar residuos aminoacídicos esenciales para esta interacción.

Conclusiones: Los SDC constituyen el grupo de genes parálogos más grande en bacterias. Han evolucionado para evitar la comunicación indeseada entre ellos y, por el contrario, les permiten a los microorganismos diversificar las señales percibidas utilizando una vía de transducción altamente conservada. En este trabajo comenzamos a elucidar cuales serían los factores que determinan la especificidad en los SDC homólogos a DesK-DesR.

SAMIGE - Biotecnología y Fermentaciones

Oral SAMIGE VI 7

0298 - ENCAPSULACIÓN DE DROGAS EN NANOPARTICULAS DE POLIHIDROXIBUTIRATO (NANOPHB)

ALVAREZ, Daniela Soledad [1] | DÍAZ PEÑA, Rocio[1] | MICHELINI, Flavia[1] | GARCIA, Cybele[2] | WETZLER, Diana[2] | MARTÍNEZ, Karina Dafne[3] | PÉREZ, Oscar[2]| MEZZINA, Mariela Paula[1] | PETTINARI, Maria Julia[2]

IQUIBICEN [1]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET [2]; DEPARTAMENTO DE INDUSTRIAS, FCEN-UBA [3]

Introducción y Objetivos: Los polihidroxialcanoatos son polímeros biodegradables sintetizados por algunas bacterias como reserva de carbono y energía. El más conocido de estos biopolímeros, y el más frecuentemente encontrado en la naturaleza, es el polihidroxibutirato (PHB). El PHB es un compuesto biocompatible y no inmunogénico, por lo que resulta apropiado para usos en medicina. En este trabajo nos propusimos desarrollar nanopartículas de PHB (nanoPHB) para la liberación de drogas antivirales. Hemos logrado poner a punto las condiciones para la obtención de nanoPHB con dimensiones definidas y reproducibles mediante la técnica de emulsificación. El objetivo de esta etapa del trabajo fue completar la caracterización del sistema y lograr la encapsulación de drogas.

Materiales y Métodos: Para la preparación de nanoPHB cargadas con compuestos hidrofóbicos, se los disolvió junto con el PHB en el solvente orgánico y luego se procedió con la emulsificación promovida por aplicación de ultrasonidos de alta intensidad. El tamaño de las nanopartículas se determinó por dispersión dinámica de luz (DLS). La concentración de PHB y de los compuestos encapsulados se determinó mediante GC. La caracterización estructural de las nanoPHB se realizó mediante dos técnicas de microscopía. Por un lado, se tiñó la suspensión de nanopartículas en agua con 2% de ácido fosfotungstico, y se la visualizó utilizando un Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM). Por otro lado, se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM). Para estudiar la internalización de nanoPHB en células eucariotas, se prepararon nanopartículas cargadas con el fluoróforo FITC y se las incubó durante 1 hora con dos líneas celulares: Vero y THP-1. Luego de lavados con tripsina, se analizaron las células por citometría de flujo.

Resultados: Al visualizar las nanopartículas mediante las técnicas de SEM y TEM, se observaron tamaños similares a los obtenidos mediante DLS. Adicionalmente, se realizaron mediciones de DLS de una suspensión de

nanoPHB durante un mes. Los resultados demuestran que las nanopartículas no modificaron su tamaño durante ese tiempo, presentando una gran estabilidad coloidal. Por otro lado, se estudió por citometría la internalización de nanoPHB en células eucariotas. Se observó que las células incubadas con nanopartículas cargadas con FITC presentaron mayor intensidad de fluorescencia que el control celular y que las células incubadas con nanoPHB sin fluoróforo (quienes, entre sí, no presentaron diferencias). Finalmente, encapsulamos estigmasterol en nanoPHB, una molécula precursora de uno de los antivirales que queremos analizar. El análisis por DLS de estas nanopartículas demostró que la encapsulación no produjo diferencias en el tamaño de las mismas.

Conclusiones: En conjunto, los resultados obtenidos en este trabajo han permitido la caracterización completa de las nanoPHB. Además, los ensayos preliminares de internalización y encapsulación muestran un gran potencial para la utilización de las nanoPHB como sistema de liberación de drogas antivirales.

Oral SAMIGE VI 8

0510 - MANIPULACIÓN DE REGULADORES GLOBALES PARA LA SÍNTESIS DE BIOPRODUCTOS EN *ESCHERICHIA COLI*

EGOBURO, Diego | DÍAZ PEÑA, Rocio | ALVAREZ, Daniela Soledad | GODOY, Manuel | MEZZINA, Mariela | PETTINARI, Julia

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET

Introducción y Objetivos: La regulación transcripcional en *Escherichia coli* comprende una red de reguladores tanto específicos como globales. Estos últimos controlan operones relacionados con el metabolismo central afectando tanto el flujo de carbono como el poder reductor. Entre los diferentes reguladores globales que afectan el metabolismo central, en este trabajo estudiamos a ArcA, CreC, Cra y Rob. ArcA es conocido como uno de los principales reguladores del metabolismo del carbono en respuesta a disponibilidad de oxígeno, mientras que CreC responde tanto a la fuente de carbono como a las condiciones de aireación. La mayoría de los genes diana de Cra codifican enzimas involucradas en el metabolismo central del C. Rob está relacionado con la tolerancia a solventes y afecta genes del metabolismo de la glucosa y el ciclo de Krebs. La manipulación de reguladores globales es una de las estrategias utilizadas para la construcción de cepas adecuadas para la síntesis de bioproductos. Sin embargo, los efectos pleiotrópicos de estos reguladores no siempre son predecibles, ya que pueden variar en diferentes condiciones y usualmente son cepa-dependientes. Este trabajo tuvo como objetivos analizar y comparar los efectos de estos reguladores sobre el metabolismo y la síntesis de biocompuestos.

Materiales y Métodos: Se utilizaron mutantes de deleción de *E. coli* BW25113, cuyo genoma esta secuenciado. La producción de compuestos endógenos (ácidos orgánicos y etanol) y no endógenos (Polihidroxibutirato y 1,3-propanodiol) fue evaluada en diferentes condiciones de aireación y medios de cultivo (M9 y LB) suplementados con glucosa o glicerol. Además, estudiamos los efectos de cada mutación sobre la tolerancia a estrés en cultivos en M9 glucosa en condiciones de baja y alta aireación. Los resultados fueron analizados mediante estadística multivariada (Análisis de Componentes Principales y de Agrupamiento Jerárquico).

Resultados: La comparación simultánea de los efectos de cada regulador en las diferentes condiciones de crecimiento permitió discriminar fenotipos particulares que pueden ser atribuidos a cada mutante y evidenció que Cra y ArcA son los reguladores con los efectos más importantes sobre el metabolismo bacteriano. Estas dos cepas resultaron ser los contextos genéticos más adecuados para la síntesis de succinato y 1,3-propanodiol (1,3-PDO), respectivamente. La mutante *"Delta"cra* fue adicionalmente modificada para incrementar la producción de este ácido, logrando un aumento del 80% con respecto a la cepa salvaje. La producción de 1,3-PDO en la cepa *"Delta"arcA* fue optimizada sobreexpresando *phaP*, lo cual permitió obtener 23,94 $g.L^{-1}$ de diol (100% más que cepa salvaje) con una productividad de 0,5 $g.L^{-1}.h^{-1}$, en cultivos en biorreactor.

Conclusiones: Como conclusión, logramos discriminar fenotipos particulares para cada mutante a pesar del efecto pleiotrópico de estos reguladores globales, revelando además que las cepas *"Delta"cra* y *"Delta"arcA* son las más adecuadas para la síntesis de compuestos de interés industrial.

Oral SAMIGE VI 9

0595 - INGENIERÍA METABÓLICA PARA UNA PRODUCCIÓN EFICIENTE DE ÉSTERES DE ÁCIDOS GRASOS MULTI METIL RAMIFICADOS DERIVADOS DE ETANOL

GALVAN, Virginia [1] | ROULET, Julia[1] | CHOLICH, Valeria[2] | BRACALENTE, Fernando[1] | GRAMAJO, Hugo[1] | ARABOLAZA, Ana[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO [1]; LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA EXPERIMENTAL, FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS [2]

Introducción y Objetivos: Existe actualmente una gran dependencia en la utilización de recursos fósiles como fuente de energía y de precursores químicos. Dado que esta fuente es finita, resulta muy importante desarrollar nuevas estrategias que permitan la obtención de dichos compuestos de manera renovable. En este contexto, mediante técnicas de ingeniería metabólica y genética, se construyó una cepa de *Escherichia coli* recombinante capaz de sintetizar ácidos grasos multi-metil ramificados (AGMR) y ésteres derivados de los mismos (EMR). Estos compuestos presentaron buenas características para su posible aplicación como biolubricantes. El sistema básico consta de de la expresión heteróloga de tres enzimas de *Mycobacterium tuberculosis*: la enzima MAS, una PKS iterativa tipo I que sintetiza un ácido micoserósico, la acil-AMP ligasa Faal28 que transfiere la molécula de ácido graso iniciador a MAS y la aciltransferasa PapA5 que cataliza la transesterificación del ácido micoserósico con el alcohol aceptor. PapA5 es capaz de utilizar una amplia variedad de alcoholes para esta reacción. El objetivo aquí, fue explorar alternativas para la producción de EMR empleando un alcohol de cadena corta como el etanol. Para ello, nos propusimos construir cepas de *E. coli* recombinantes capaces de producir el etanol necesario de manera endógena, así como caracterizarlas *in vivo* para la producción de este alcohol y de las correspondientes ceras. Se evaluaron dos estrategias para la biosíntesis de etanol mediante la expresión heteróloga de distintas enzimas: A) Alcohol deshidrogenasa (AdhE) de *E. coli* que cataliza la reducción de acetil-CoA a etanol en una reacción en dos pasos (la versión utilizada posee una mutación que le permite estar activa en condiciones aeróbicas); B) a partir de las enzimas Piruvato decarboxilasa (Pdc) y Alcohol deshidrogenasa (AdhB) de *Zymomonas mobilis* que catalizan la reducción de piruvato a etanol.

Materiales y Métodos: Se evaluó cualitativamente la producción de ceras a través de ensayos de bioconversión en medio rico y medio mínimo con glucosa, seguido de extracción de lípidos y cromatografía en capa delgada. Asimismo, se cuantificó la producción de etanol mediante el método de microdifusión y titulación.

Resultados: Los resultados obtenidos indican que las dos estrategias llevan a una eficiente producción de etanol, y se detectó un gran incremento en la biosíntesis de este alcohol en medio mínimo con glucosa, suficiente para obtener una cantidad de ceras similar a la observada en el control (agregado exógeno de etanol). Sin embargo, en ausencia de un sustrato fermentable las cantidades obtenidas son menores. Esto se ve reflejado directamente en los niveles de ceras alcanzados en cada caso.

Conclusiones: En base a esto, podemos concluir que las cepas obtenidas permiten una buena la producción de ceras a partir de la biosíntesis endógena de etanol; siendo el sistema desarrollado un proceso *de novo* para la generación de diversidad estructural de EMR que evita el agregado externo del sustrato alcohol.

Pósters

Presentación de pósters SAMIGE 3

Viernes 27 de septiembre
13:30 – 15:00 h
Sala de Posters

SAMIGE - Biorremediación y Biocontrol

VI 204

0818 - ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *IN VITRO* DE LEVADURAS NATIVAS FRENTE A *FUSARIUM SP*. QUE AFECTAN NEGATIVAMENTE LA CADENA PRODUCTIVA DE SEMILLAS DE CEBOLLA

SOTOMAYOR, Florencia[1] | PESCE, Virginia[2] | **PEDROZO, Paula** [2] | NALLY, Cristina[2] | SÁNCHEZ, Gonzalo[1] | FLORES, Cintia Belen[2] | CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucia[3] | VAZQUEZ, Fabio[4]

IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ [1]; IBT-FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ/CONICET [2]; PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. [3]; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA - FACULTAD DE INGENIERÍA - UNSJ [4]

Introducción y Objetivos: San Juan es una de las principales provincias productoras de semilla de cebolla del país. Esta actividad puede ser afectada por diferentes hongos filamentosos que reducen los rendimientos en diferentes etapas del cultivo, siendo *Fusarium* uno de los géneros más importantes. El control de las enfermedades fúngicas consiste en el empleo de fungicidas químicos. Sin embargo, su uso puede favorecer fracciones poblacionales de hongos tolerantes a los mismos, además de ocasionar un impacto negativo sobre el ambiente y la salud humana. El biocontrol empleando levaduras antagonistas resulta promisorio para reducir el uso de fungicidas, ya que pueden disminuir las enfermedades causadas por patógenos fúngicos del suelo y transmitidos por semilla. El objetivo del trabajo fue evaluar *in vitro* la capacidad antagonista de levaduras

nativas frente a aislamientos de *Fusarium* sp., perjudiciales para el cultivo de cebolla destinado a la producción de semillas.

Materiales y Métodos: A partir de semillas y muestras de tejido de bulbos de cebolla con síntomas de podredumbre se realizó el aislamiento, purificación e identificación morfológica de los patógenos. Para determinar la actividad antagónica *in vitro* se emplearon 55 levaduras nativas del cepario del IBT-FI-UNSJ: *Aureobasidium pullulans* [3], *Cryptococcus magnus* [3], *Metschnikowia pulcherrima* [9], *Rhodotorula glutinis* [3], *Saccharomyces cerevisiae* (36) y *Schizosaccharomyces pombe* [1]. Discos de micelio de los patógenos se sembraron en el centro de placas de Petri con medio Papa Dextrosa Agar. Las levaduras (10µL; 10^8 cel/mL) se sembraron en forma equidistante alrededor del fitopatógeno. Las placas se incubaron 10 días a 25°C, en oscuridad. La actividad antagónica se registró de la siguiente forma: ausencia de antagonismo, inhibición por contacto, inhibición a distancia.

Resultados: Se obtuvieron 10 aislamientos del género *Fusarium*, 7 a partir de bulbos con síntomas de podredumbre blanda (BC9, BC10, BC11, BC12, BC13, BC14, BC19) y 3 de semillas de cebolla (BC1, BC15 y BC20). La acción antagónica de las levaduras frente a los patógenos evidenció, en orden decreciente, el siguiente grado de sensibilidad: *Fusarium* BC19 (inhibido a distancia por 31 levaduras)>BC14 (28)>BC10 (26)>BC11 (25)>BC1, BC9, BC12 (24)>BC13 (21)>BC15 (14)>BC20 [5], siendo éste último el más resistente a la acción biosupresora de las levaduras. Todas las levaduras S. cerevisiae inhibieron a distancia a 4 o más aislamientos fúngicos. De éstas, *S. cerevisiae* PB70 y BSc56, redujeron el crecimiento micelial de todos los fitopatógenos ensayados, *in vitro*. De las especies restantes, sólo *M. pulcherrima* inhibió a *Fusarium* (BC1, BC11, BC19).

Conclusiones: Levaduras nativas de la especie *S. cerevisiae* pueden ser potenciales agentes de biocontrol de *Fusarium* sp., lo que permitirá disminuir las pérdidas ocasionadas por este patógeno en diferentes estados de desarrollo del cultivo de cebolla.

VI 205

0867 - INFLUENCIA DE MEDIOS DE CULTIVO SOBRE CARACTERÍSTICAS BENEFICIOSAS DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE COMPUESTOS AROMÁTICOS DEL PETRÓLEO

LOBO, Constanza Belén[1] | CORREA DEZA, María Alejandra[1] | **FERRERO, Marcela** [2] | JUÁREZ TOMÁS, María Silvina[1]

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. [1]; YPF TECNOLOGÍA (Y-TEC)-CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Las bacterias que persisten en ambientes contaminados con compuestos aromáticos del petróleo (hidrocarburos, tiofenos) han desarrollado mecanismos fisiológicos y moleculares para contrarrestar el estrés ambiental. La acumulación intracelular de polifosfato inorgánico (polyP) en bacterias representa uno de esos posibles mecanismos. Asimismo, la hidrofobicidad de la superficie celular y producción de bioemulsionante son propiedades beneficiosas de diversos microorganismos, que facilitan su interacción con compuestos orgánicos hidrofóbicos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes medios de cultivo sobre el crecimiento, la hidrofobicidad de la superficie celular, la producción de bioemulsionante y la acumulación de polyP de bacterias degradadoras de hidrocarburos (BDH).

Materiales y Métodos: Se utilizaron cepas aisladas a partir de sedimentos marinos y suelos contaminados con petróleo. Pseudomonas sp. P26 fue seleccionada por su capacidad de remoción de naftaleno y fenantreno, Rhodococcus sp. P18, F27 y Gordonia sp. H19 por remover pireno, y Rhodococcus jostii RHA1 y Rhodococcus sp. 20 por remover naftaleno, fenantreno y pireno. Se estudiaron las propiedades de BDH cultivadas en LB (medio de cultivo estándar) y JPP (medio diseñado para bacterias marinas), a 30°C hasta el final de la fase exponencial de crecimiento. Se realizó la cuantificación de células viables por el método de diluciones sucesivas y posterior siembra en medios sólidos. El estudio de la hidrofobicidad de la superficie celular se llevó a cabo por el método de partición en solventes orgánicos no polares (tolueno), y la actividad bioemulsionante se evidenció por el método de agitación mecánica con kerosene. La acumulación de polyP se evaluó mediante tinción de Neisser y observación al microscopio óptico. Los resultados se analizaron aplicando el modelo lineal de análisis de la varianza.

Resultados: Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de células viables y porcentaje de hidrofobicidad de las cepas evaluadas. Por otra parte, las variables cepa y medio de cultivo ejercieron efectos significativos en la producción de bioemulsionante. Rhodococcus sp. P18 en LB fue la cepa con mayor índice de emulsión a las 24 h (IE24 = 39%) y menor hidrofobicidad. Los mayores valores de porcentaje de hidrofobicidad se observaron en Rhodococcus sp. 20 en LB (88%), Rhodococcus jostii RHA1 (87%) y Rhodococcus sp. F27 (68%) en ambos medios. Los resultados de la tinción de polyP fueron Neisser (+) en todos los casos, observándose la metacromasia característica de los gránulos de polyP en el citoplasma celular.

Conclusiones: Los resultados obtenidos indican que las BDH evaluadas presentan diferentes propiedades para interactuar con compuestos hidrofóbicos contaminantes y resistir a su potencial presencia. El medio de cultivo afecta esas propiedades en algunas BDH.

VI 206

0874 - DESARROLLO DE ESTRATEGIAS PARA EL BIOCONTROL DE HONGOS FITOPATOGENOS MEDIANTE EL USO DE METABOLITOS SECUNDARIOS Y NANOPARTICULAS METALICAS BIOGENICAS A PARTIR DE *TRICHODERMA HARZIANUM*

TORRES NICOLINI, Andrés[1] | PARISE, Alejandro Ruben[2] | ALVAREZ, Vera[1] | **CONSOLO, Veronica Fabiana** [3]

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES (INTEMA- CONICET-UNMDP) [1]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL P [2]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGIA INBIOTEC-CONICET/FIBA [3]

Introducción y Objetivos: Los hongos del género Trichoderma son microorganismos de suelo que se caracterizan por ser agentes de biocontrol, promover el crecimiento vegetal, secretar enzimas y metabolitos secundarios. Recientemente se ha descripto que algunas cepas reducen metales generando nanopartículas. Tanto los metabolitos secundarios como las nanopartículas poseen propiedades químicas y biológicas de interés para aplicaciones médicas, farmacéuticas o agrícolas. La búsqueda de alternativas innovadoras para el control de microorganismos fitopapatógenos es un área que debe ser explorada. El objetivo de este trabajo fue obtener y caracterizar metabolitos secundarios y nanopartículas a partir de una cepa nativa de Trichoderma y evaluar su capacidad de biocontrol.

Materiales y Métodos: Se cultivó el hongo durante 7 días a 24 ºC en medio líquido y con agitación constante. Posteriormente, se separó la biomasa fúngica y se trabajó con el caldo de cultivo. Para la obtención de metabolitos, el filtrado del cultivo se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se desecaron con Na_2SO_4 y se evaporaron en rotavapor bajo presión reducida a 40 ºC. El residuo obtenido se resuspendió en etil acetato: metanol (10: 1 v/ v) y fue sometido a cromatografía de capa fina en sílica gel utilizando fases móviles de diferente polaridad (hexano, hexano: etil acetato 1:1 y metanol: acetato 10:1). Los compuestos se revelaron por radiación UV. Para la síntesis de nanopartículas, la biomasa fúngica (20 g) fue lavada y transferida a un erlenmeyer con agua estéril durante 24 h a 24 °C con agitación. Se separó la biomasa por filtración y se recogió el filtrado. Las nanopartículas se sintetizaron agitando soluciones de A-gNO-3 (1 y 3 mM) con el filtrado en oscuridad a 40 °C y pHs entre 6 y 11. Las nanopartículas formadas se separaron por centrifugación. Tanto los extractos como las nanopartículas secas se utilizaron para evaluar su efecto de biocontrol sobre los fitopatógenos Alternaria, Cercospora, Dreschleray Pyricularia sp. Para ello éstos hongos fueron crecidos en medio PDA suplementado con 0, 5 1, 5 y 10 % de los extractos y las nanopartículas en experimentos independientes.

Resultados: El fraccionamiento cromatográfico de los extractos mostró una mezcla de compuestos que deberá ser indentificado. La síntesis óptima de nanopartículas fue con solución 3 mM de A-gNO-3y pH 11, observándose su formación a partir de los 30 min de incubación. El tamaño medio de partículas fue de 150 - 200 nm. El extracto orgánico incorporado al medio de cultivo en concentraciones del 5-10% inhibió el crecimiento los cuatro patógenos ensayados entre 10-30%. De la misma manera, se redujo el crecimiento de éstos hongos entre 20-30% en el medio de cultivo suplementado con 1% de nanopartículas. Ninguno de los compuestos mostró toxicidad para la cepa de Trichoderma.

Conclusiones: Estos resultados apuntan al desarrollo de formulaciones de agroinsumos tecnológicamente novedosas para el control de enfermedades fúngicas.

VI 207

0880 - CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA DE LA OXIDACIÓN DE MANGANESO Y LA FORMACIÓN DE BIOFILMS EN BACTERIAS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO

PIAZZA, Ainelen | CIANCIO CASALINI, Lucila | SERRA, Diego Omar | OTTADO, Jorgelina | GOTTIG, Natalia

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos: La relación entre el proceso de formación de biofilms y de oxidación de Mn en bacterias no ha sido profundizada hasta el momento y, sin embargo, se considera un enfoque clave para tratar de optimizar los procesos de filtración biológica utilizados en la remoción del metal. Los biofilms de macrocolonias en placas de agar, representan un modelo muy valioso para el estudio de biofilms dado que muestran un nivel de organización muy alto. Asimismo, pueden adoptar morfologías complejas que dependen de la producción de exopolisacáridos (EPS) específicos y esta relación es utilizada como el principio de los ensayos de morfología de macrocolonia en agar. Los mismos aprovechan la capacidad que tienen los colorantes

como el Rojo Congo (RC), el Calcoflúor (CF) y la Tioflavina-S (TS) que se agregan al medio de agar, y que tiñen los EPS, sin influenciar el crecimiento o la morfogénesis del biofilm. Por otro lado, es posible estudiar la anatomía de la macrocolonia a partir de la combinación de crioseccionamiento (cortes finos a través de la macrocolonia) y microscopía. En este trabajo se utilizó el modelo de biofilm de macrocolonias en la cepa MOB-181 con el objetivo de vincular los procesos de formación de biofilms y de oxidación de Mn. Esta bacteria es muy versátil, con capacidad de oxidar Mn en un amplio rango de temperaturas, en diversos medios de cultivo y en presencia de otros metales. Por otro lado, muestra una excelente capacidad formadora de biofilms, incrementada en presencia de Mn. Esta propiedad es esencial para colonizar los filtros de remoción y para evitar la pérdida o eliminación por lavado de los mismos.

Materiales y Métodos: Ensayos de morfología de macrocolonia en agar. Crioseccionamiento (cortes finos a través de la macrocolonia) y microscopía.

Resultados: Las microscopías obtenidas de las criosecciones de las macrocolonias crecidas en presencia de Mn mostraron que los óxidos de Mn se precipitan y retienen dentro del biofilm y se reconocieron las zonas específicas del biofilm capaces de llevar a cabo la oxidación del metal. En la segunda parte del trabajo, se pudo detectar la producción de EPS en biofilms de macrocolonias de MOB-181, luego del cuarto día de crecimiento. Se observó una reacción positiva con cada uno de los colorantes ensayados (RC, CF y TS), indicando además que la producción de EPS en MOB-181 es independiente de la presencia o ausencia de Mn en el medio. Sin embargo, se observó que la producción de EPS estaba incrementada en presencia de Mn. Finalmente, gracias al enfoque de crioseccionamiento/microscopía se pudo observar capas diferenciales de células dentro del biofilm de MOB-181 capaces e incapaces de producir EPS.

Conclusiones: En este trabajo se demostró por primera vez que las macrocolonias pueden ser muy útiles para estudiar estos dos procesos en simultáneo. El empleo de estas nuevas técnicas permite tomar dimensión de lo que ocurre en el interior de los biofilms, mostrando heterogeneidad con respecto al estado fisiológico de las células que éstos albergan, y permiten tomar conclusiones más precisas de lo que realmente ocurre en una comunidad microbiana real compleja.

VI 208

0887 - APLICACIÓN DEL PROCESAMIENTO DE IMÁGENES CON IMAGEJ® PARA ESTUDIAR LAS CARACTERÍSTICAS DE CÉLULAS AISLADAS PRESENTES EN BIOPELÍCULAS

DANIEL, María Alejandra | VULLO, Diana Lía

ÁREA QUÍMICA - INSTITUTO DE CIENCIAS - UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SARMIENTO

Introducción y Objetivos: Las biopelículas se conocen comúnmente como poblaciones de microorganismos unidos a una superficie dada, pueden formarse por una única o múltiples especies de organismos y constituye una estrategia de supervivencia. Las condiciones de crecimiento promueven cambios en las actividades enzimáticas microbianas que pueden alterar su organización estructural. En estudios previos, se observó que el desarrollo de biopelículas de *Pseudomonas veronii* 2E sobre vidrio en cultivos estáticos se perturba de acuerdo a cambios nutricionales y temperatura de incubación. Conocer cómo es la estructura de la biopelícula de P. veronii 2E es esencial para desarrollar y optimizar biorreactores para remediar efluentes contaminados con metales. El objetivo del presente trabajo es estudiar las características de células aisladas observadas en biopelículas desarrolladas por *P. veronii* 2E sobre vidrio bajo diferentes condiciones de cultivo mediante la adquisición de imágenes y su procesamiento posterior con el programa ImageJ®.

Materiales y Métodos: Se estudió la cinética de formación de biopelículas sobre cubreobjetos en microplacas de 6 cavidades con 3,0 ml de cada medio de cultivo base con diferentes fuentes de carbono. Se trabajó con dos medios de cultivos base, un medio mínimo salino y un medio complejo. Se extrajeron los cubreobjetos a 4 tiempos de muestreo (de 0 a 55 h), luego de teñir con violeta cristal, se observaron por microscopia de campo claro y se adquirieron las imágenes a cada tiempo y condición. Dichas imágenes se analizaron digitalmente con el programa ImageJ® para identificar células aisladas a partir del reconocimiento de partículas, seleccionando, en pixeles, las partículas de menor tamaño (entre 20 y 200). Sobre este conjunto inicial, se estudió la dispersión en los tamaños de las partículas y se acotó el rango al de mayor frecuencia. Se analizaron diferentes parámetros característicos (como el área promedio o la longitud y ancho promedios) al conjunto de partículas seleccionado.

Resultados: El tamaño de las células aisladas (determinado por el área cubierta, el largo y ancho de cada célula) inmovilizadas en los cubreobjetos cambió conforme variaron las condiciones nutricionales. Se halló una diferencia del 50% mayor en el tamaño celular al comparar el crecimiento con medios complejos respecto del crecimiento con medios mínimos. Por otro lado, con los medios complejos y glucosa como fuente de carbono se halló una disminución del tamaño celular en función del tiempo, mientras que, con medios mínimos, el tamaño celular prácticamente no varió en función del tiempo.

Conclusiones: La aplicación del ImageJ® permitió determinar que el tamaño y características de las células aisladas identificadas en biopelículas de *P. veronii* 2E está determinada por las condiciones nutricionales. Estos

resultados refuerzan y complementan los obtenidos previamente en cuanto a la cobertura de la superficie por parte de la biopelícula.

VI 209 0927 - SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE EFLUENTES CON COBRE MEDIADOS POR *PSEUDOMONAS VERONII* 2E INMOVILIZADA EN MATRIZ INERTE

BUSNELLI, Maria Pia | VULLO, Diana Lía

ÁREA QUÍMICA - INSTITUTO DE CIENCIAS - UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SARMIENTO

Introducción y Objetivos: La creciente necesidad de proporcionar a un metal deseado características que, por naturaleza no contiene, tales como resistencia a la oxidación, conductividad, resistencia térmica y mecánica, dureza, brillo, etc, ha dado lugar a un gran incremento en las actividades de las industrias galvanoplásticas. Las mismas generan enormes cantidades de efluentes que, al contener metales de relevancia ambiental como Cadmio, Cobre, Cromo, Estaño, Níquel, Zinc, entre otros, producen severos daños en el ecosistema si no se los elimina del efluente, antes de su descarga en cuerpos de agua. Aunque los métodos químicos son más deseados que los biológicos para disminuir la concentración de los mismos, presentan la desventaja de que los costos de operación son muy elevados. El escenario ante concentraciones bajas de metal en los efluentes, menor a 100 mg/L, en donde no es rentable aplicar métodos químicos se prefieren los biológicos por su efectividad y bajo costo para cumplir con las normativas vigentes de descargas. Por la problemática antes planteada, el objetivo de este trabajo se basó en la recuperación de Cu(II) de un efluente modelo , mediante células enteras de Pseudomonas veronii 2E inmovilizada en esponja vegetal en un sistema batch con recirulación

Materiales y Métodos: En una primera etapa, se inmovilizó las células en el soporte, en medio mínimo M9 suplementado con Glicerol (2 % v/v) 20mL) a 32 ºC, con baja agitación, en un biorreactor batch durante 16 días, renovando el medio de cultivo cada 2-3 días en condiciones de asepsia. Una vez que finalizó el tiempo de inmovilización, se lavó el sistema con agua ultra pura y se secó en estufa a 37 ºC durante 48 h. Se determinó la cantidad de biomasa adherida (BI) por diferencia de pesada. En una segunda etapa, se enfrentó la BI con 200 mL de un efluente modelo con 1mM Cu(II), en un reactor batch cerrado con recirculación a 32ºC durante 9 días. Se cuantificó el metal remanente en el sobrenadante utilizando el método del ácido bicinconínico.

Resultados: Los resultados indicaron que 1 g de BI /g de esponja vegetal adsorbieron un 78.27 % del Cu(II) inicial. Por último en una tercera etapa, se vació el reactor y luego se recirculó 80 mL de una solución de HCl 75 mM como desorbente del metal, en donde se obtuvo una desorción del 100 % del metal a los 90 minutos. Por último en una tercera etapa, se vació el reactor y luego se recirculó 80 mL de una solución de HCl 75 mM como desorbente del metal, en donde se obtuvo una desorción del 100 % del metal a los 90 minutos.

Conclusiones: Basados en los resultados obtenidos se puede concluir que Pseudomonas veronii 2E inmovilizada en esponja vegetal resulta un sistema eficiente en esta escala de trabajo por la capacidad de adsorber y desorber el metal, concentrándolo en volúmenes más pequeños para su posible recuperación posterior. Sumado a las ventajas que representa la inmovilización de bacterias, el no depender de un sistema metabólico activo y su fácil manipulación, el sistema resulta un candidato ideal para un biotratamiento por sus bajos costos de operación.

VI 210
0942 - EFECTO DE INDUCTORES ENZIMÁTICOS EN LA DECOLORACIÓN DE NEGRO REACTIVO 5 POR LEVADURAS DEL ORDEN TRICHOSPORONALES

NAVARRO, Alvaro Martin | BULACIO GIL, Natalia M. | CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucía I. | PAJOT, Hipólito F.

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET

Introducción y Objetivos: *Haglerozima chiarellii* ATCC MYA-4694, *Cutaneotrichosporon curvatum* ATCC 10567 y *Trichosporon akiyoshidainum* HP-2023 son levaduras del orden Trichosporonales. *T. akiyoshidainum* producen enzimas como Fenol Oxidasas (FOX), Lacasas (Lac), Manganeso Peroxidasas (MnP), Peroxidasas Independiente de Manganeso (PIM) en cultivos con Negro Reactivo 5 (NR5). Estas enzimas, por su baja especificidad, podrían estar involucradas en la modificación de lignina y la degradación de compuestos xenobióticos, como los colorantes textiles. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diversos inductores sobre la decoloración de NR5, por *H. chiarellii* y *C. curvatum* y compararlos con los resultados obtenidos en cultivos de *T. akiyoshidainum*.

Materiales y Métodos: Para confirmar el poder decolorante de H. chiarellii y C. curvatum, se realizaron cultivos de 50 mL en medio NDM (Normal Decolourization Medium) líquido, con 200 mg/L del colorante e incubados a 25°C y 250 rpm por 24 horas. Se tomaron muestras cada 3 horas de cultivos y se evaluaron las

actividades enzimáticas y la cinética de decoloración de NR5. A continuación se prepararon cultivos de 5 mL en medio NDM, con 200 mg/L del colorante NR5 y uno de los siguientes inductores: Fe^2+, Cu^2+, Mn^2+, ácido 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), alcohol veratrílico, vainillin, ácido cafeico y lignina en una de dos concentraciones. Los cultivos fueron inoculados con las diferentes levaduras e incubados a 25 °C y 250 rpm durante 6 horas. Posteriormente, se evaluó la actividad Lac, FOX, MnP y PIM en los sobrenadantes de cultivo, y el porcentaje de decoloración para cada cultivo.

Resultados: A las 24 h de cultivo, ambas levaduras produjeron una decoloración superior al 80% en ambos casos. Las actividades enzimáticas medidas fueron comparables a las obtenidas en cultivos de *T. akiyoshidainum* (< 0.5 UI/L), con picos de actividad entre las 6 y las 12 horas, medidos sólo en cultivos con el colorante. Ninguna de las actividades enzimáticas en cultivos de *H. chiarellii* y *C. curvatum* aumentó a causa de los inductores ensayados, en ninguna de las concentraciones probadas tras 6 horas de cultivo. Los cultivos de ambas levaduras a las 6 h mostraron una decoloración promedio inferior al 10%, y no se registraron mayores valores de decoloración atribuibles a los inductores evaluados.

Conclusiones: Se comprobó que *H. chiarellii* y *C. curvatum* decoloran eficientemente NR5 en cultivos líquidos. Además, se demostró que el colorante puede inducir actividades Lac, FOX, MnP y PIM en estas levaduras, pero que el agregado de inductores de enzimas ligninolíticas no tiene efecto sobre las actividades medidas ni sobre la velocidad de decoloración, sugiriendo la participación de otras enzimas o de mecanismos inespecíficos de decoloración en levaduras del orden Trichosporonales.

VI 211

0954 - CONTROL INTEGRADO DE LA POLILLA DE LA VID CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

OLIVIERI, Gabriela[1] | DEYMIÉ TERZI, María Celina[2] | TORRENTE, Karina Andrea[3] | **CABALLERO, Juan José** [4] | HERRERA, María Eugenia[5] | VAZQUEZ, Fabio[4]| AGUILERA, Juan[2]

SENASA [1]; IBT, FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET [2]; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ [3]; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ [4]; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA - EEA MENDOZA [5]

Introducción y Objetivos: La polilla de la Vid *Lobesia botrana* es la plaga más importante en los cultivos vitícolas de todo el mundo. En la actualidad su control depende del uso de insecticidas químicos. Sin embargo, su uso desmedido ha conducido a la aparición de fracciones poblacionales resistentes a los insecticidas, y ha impactado sobre otros organismos benéficos. Esto pone de manifiesto la necesidad de implementar prácticas de control más amigables con el ambiente, en favor de la sostenibilidad de los agroecosistemas. Bajo estas circunstancias, se encuentra en auge el desarrollo de biocontroladores como parásitos, parasitoides, nemátodos, bacterias, y hongos entomopatógenos. Respecto a estos últimos, los hongos entomopatógenos son considerados importantes agentes naturales de control que limitan las poblaciones de insectos. Por esta razón constituyen una herramienta potencial para ser utilizados en un manejo integrado de plagas en conjunto con dosis reducidas de pesticidas.

Materiales y Métodos: Para llevar a cabo estos ensayos, se utilizaron 20 larvas con seis repeticiones por cada tratamiento. Las larvas fueron infectadas individualmente con 2 µL de una formulado correspondiente a distintos tratamientos. Estos fueron: 1-Spinosad 48% en dosis de 0.15 µL/mL), 2- CEP591 en dosis de $1x10^8$ c/mL, 3-Spinosad 48% en dosis de 0.075 µL/mL + CEP591 en dosis de $1x10^4$ c/mL y 4-agua destilada como control. Las larvas tratadas se llevaron a campo y se colocaron sobre racimos de vid los cuales se cubrieron con mallas antiáfidos que se fijaron cuidadosamente al raquis de cada racimo. De esta manera se mantuvo un sistema cerrado de conteo efectivo pero sin alterar las condiciones de temperatura, humedad o intensidad lumínica. Para asegurar la independencia de los tratamientos, éstos se separaron espacialmente por al menos 20 metros. Las plantas seleccionadas para los tratamientos fueron elegidas al azar. Ningún producto químico fue aplicado mientras los tratamientos estuvieron en proceso. A las 96 horas los racimos cerrados junto con las larvas fueron transportados al laboratorio para el conteo de cadáveres.

Resultados: Los resultados obtenidos señalan que el análisis de la varianza no detectó diferencias significativas entre la mortalidad obtenida en los tratamientos donde se utilizó el insecticida en su dosis recomendada (98,33 %), el insecticida combinado con la CEP591 en dosis reducida a la mitad (100 %) y el tratamiento con la cepa CEP591 (92,41 %). Además estos 3 tratamientos se diferenciaron del tratamiento control (0%) (H= 15,54; p=0,0005).

Conclusiones: Se puede concluir que la cepa (CEP591) de *Metarhizium* sp. nativa de San Juan, puede resultar efectiva para controlar a *L. botrana* en condiciones de campo, permitiendo reducir el uso de insecticidas.

VI 212

0967 - BIOCONTROL DE *BOTRYTIS CINEREA* CON LEVADURAS VITIVINÍCOLAS EN LECHUGA (*LACTUCA SATIVA* L.)

LENCINAS, Marcos [1] | FLORES, Cintia Belen[2] | PEDROZO, Paula[2] | PESCE, Virginia[2] | VAZQUEZ, Fabio[3] | NALLY, Cristina[2]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNSJ [1]; INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA-FACULTAD DE INGENIERÍA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN/CONICET [2]; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ [3]

Introducción y Objetivos: La lechuga es una especie anual y autógama, perteneciente a la familia Asteraceae. En Argentina, la lechuga, el tomate y la papa se encuentran entre las hortalizas más consumidas y cultivadas del país. Invernaderos de la provincia de San Juan han evidenciado pérdidas en la calidad de las plántulas de lechuga debido a la presencia de *B. cinerea*, un hongo filamentoso de la familia Sclerotinicaeae, capaz de infectar a más de 230 especies de plantas huésped. El uso de levaduras antagonistas ha sido estudiado por grupos de investigación de todo el mundo y representa una de las estrategias con mayor potencial para el control integrado de enfermedades fúngicas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antifúngica de levaduras vitivinícolas frente a cepas de *B. cinerea* fitopatógenas y la capacidad de promover el crecimiento vegetativo de la lechuga.

Materiales y Métodos: 1- Inóculo de levaduras: Se ensayaron 16 levaduras vitivinícolas (15 *Saccharomyces cerevisiae* y 1 *Schizosaccharomyces pombe*) que presentaron actividad antifúngica frente a *B. cinerea* en granos de uva. 2- Inóculo fúngico: Se ensayaron 4 cepas de *B. cinerea* aisladas de suelo de cultivos de lechuga con síntomas de pudrición gris, las cuales fueron nombradas de la siguiente manera: B11, B15, B1687 y B1697. 3- Evaluación de la capacidad antagónica de levaduras frente a cepas de *B. cinerea* en condiciones in vivo: En macetas con sustrato estéril se colocó un disco de micelio fúngico y sobre el mismo una semilla de lechuga pre-esterilizada con hipoclorito de sodio. A las 24 h se inocularon las levaduras viables en forma de riego (10 mL, 10^8cel/mL) sobre la semilla y el disco de micelio fúngico. Las macetas se incubaron a 20° C con fotoperiodo de 12 h de luz/12 h de oscuridad, humedad relativa 90% durante 30 días. Controles: a) Semillas inoculadas solo con disco de micelio de *B. cinerea*; b) Semillas inoculadas solo con agua destilada estéril. Posteriormente a los 30 días se midieron los siguientes parámetros fisiológicos en todos los ensayos y controles: 1) Capacidad biocontroladora de las levaduras frente a *B. cinerea* cómo % de incidencia de la enfermedad= (nº plantas enfermas o muertas/nº plantas totales) x 100; 2) Superficie foliar (cm^2); 3) Longitud de la raíz (cm); 4) Peso húmedo de hojas y raíz (g); 5) Peso seco de hojas y raíz (g).

Resultados: La levadura *S. cerevisiae* BSc5, además de disminuir significativamente la incidencia de *B. cinerea* en plantines, incrementó de forma significativa la superficie foliar (41%), peso seco de hojas (36%) y raíces (40%) de las plantas de lechuga en presencia del patógeno en relación al control.

Conclusiones: Los experimentos in vivo revelaron el potencial efecto biocontrolador y biofertilizante de la levadura *S. cerevisiae* BSc5, por lo tanto, puede ser una alternativa válida para el control del desarrollo de *B. cinerea* y promoción del crecimiento vegetativo mediante el empleo de este aislamiento en plantines de lechuga.

VI 213

0988 - EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES QUITINASA Y ß-1,3-GLUCANASA DE AISLAMIENTOS DE *TRICHODERMA* SPP. COMO POTENCIALES BIOCONTROLADORES

ALDERETE, Jose Alejandro | LOPEZ, Ana Clara | **ALVARENGA, Adriana Elizabet** | ZAPATA, Pedro Darío | VILLALBA, Laura Lidia

LAB. BIOTECNOLOGIA MOLECULAR-INBIOMIS-FCEQYN-UNAM

Introducción y Objetivos: Los hongos del género *Trichoderma* son activos contra una amplia gama de fitopatógenos, y se utilizan exitosamente como bioplaguicidas en aplicaciones agrícolas. Estos hongos emplean el micoparasitismo como uno de sus mecanismos para ejercer el control biológico, penetrando la pared celular del hongo hospedante y utilizando su contenido celular, mediante enzimas hidrolíticas tales como las quitinasas, glucanasas y proteasas, las cuales se inducen, al menos parcialmente, ante el contacto directo con el hospedante. El objetivo de este trabajo fue determinar cuantitativamente la producción de quitinasa y ß-1,3-glucanasa en cuatro cepas de *Trichoderma* spp. nativas de la provincia de Misiones.

Materiales y Métodos: Para esta investigación se seleccionaron cuatro hongos aislados de diferentes regiones de la provincia de Misiones que pertenecen a la Colección de cultivos de INBIOMIS. Los aislamientos utilizados fueron *Trichoderma atroviride* LBM112, *Trichoderma koningiopsis* LBM116, *Trichoderma stilbohypoxyli* LBM120 y *Trichoderma koningiopsis* LBM 219. Para la determinación de quitinasa y ß-1,3-glucanasa, se inocularon 20 ml de medio sintético de quitina coloidal o medio Mandels, respectivamente, con una suspensión de esporas de $1x10^6$ esporas/ml de cada cepa por triplicado. Los cultivos se incubaron a 28°C con una agitación de 100 rpm durante 8 días. Se recolectaron los sobrenadantes de cultivo por centrifugación cada 24 horas. Se determinaron las actividades con el método del ácido dinitrosalicílico (DNS), utilizando quitina coloidal como sustrato para la actividad quitinasa y laminarina para la actividad ß-1,3-glucanasa.

Resultados: El mayor valor de actividad quitinasa fue registrado a los cinco días de cultivo en el sobrenadante de cultivo de LBM 219 (43 U/L), seguido por los valores de actividad detectados para los sobrenadantes de LBM 112 (41 U/L) y LBM 116 (40 U/L) a los seis días de cultivo. Con respecto a la actividad ß-1,3-glucanasa, el mayor valor de actividad enzimática se registró a los ocho días de cultivo en el sobrenadante LBM 116 (410 U/L).

Conclusiones: Se concluye que estas cepas nativas de la provincia de Misiones presenta un alto potencial para ser utilizadas en la producción de bioinsumos para su aplicación como biocontroladores.

VI 214

0627 - COMPETENCIA POR NUTRIENTES ENTRE CEPAS DE *BOTRYTIS CINEREA* FITOPATÓGENAS DE UVA DE MESA Y LEVADURAS BIOSUPRESORAS NATIVAS DE SAN JUAN

FLORES, Cintia Belen [1] | PESCE, Virginia[1] | PEDROZO, Paula[1] | LENCINAS, Marcos[2] | VAZQUEZ, Fabio[3] | MATURANO, Paola[1] | NALLY, Cristina[1]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA-FACULTAD DE INGENIERÍA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN/CONICET [1]; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ [2]; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA- FACULTAD DE INGENIERÍA- UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN [3]

Introducción y Objetivos: La descomposición de uvas de mesa es causada principalmente por *Botrytis cinerea*. Este patógeno es responsable de grandes pérdidas, afectando económicamente a la provincia de San Juan, principal productora y exportadora en Argentina. El uso de fungicidas químicos es uno de los métodos más utilizados para controlar esta enfermedad. Sin embargo, el empleo de levaduras como agentes de control biológico surge como alternativa de control más sustentable. La competencia es uno de los principales mecanismos de antagonismo entre levaduras y hongos fitopatógenos. A través de la similitud ecológica entre los microorganismos estimada a partir del Índice de Superposición de Nichos (NOI), se podría determinar si existe exclusión competitiva entre ellos, lo que da como resultado la disminución poblacional del patógeno. El objetivo de este trabajo fue evaluar el Índice de superposición de nichos (NOI) entre 18 levaduras biosupresoras curativas y 2 cepas de B. cinerea, en condiciones in vitro.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 18 levaduras vitivinícolas: 12 *Saccharomyces cerevisiae*, 2 *Torulaspora delbrueckii*, 1 *Saccharomyces chevalieri*, 1 *Candida sake*, 1 *Hanseniaspora vinae* y 1 *Debaryomyces vanrijiae*. También 2 cepas de *B. cinerea* B15 y B24 las cuales se aislaron de muestras de uvas en pudrición. Discos de micelio de 9mm de diámetro de los hongos fitopatógenos y alícuotas de levaduras biosupresoras (20µL, 10^6UFC/ml) se sembraron puntualmente e individualmente sobre medio YNB-agar con diferentes fuentes carbonadas presentes en uvas: sacarosa, prolina, asparagina, ramnosa, alanina, melibiosa, ácido glutámico, tirosina, rafinosa, arginina, lisina, fructosa, metionina, glicina, ácido málico, glucosa, ácido tartárico, manitol, ácido cítrico y galactosa. Las placas se incubaron a 25°C durante 14 días en oscuridad. Se determinó el NOI como el número de fuentes carbonadas utilizadas por ambos aislamientos (Levadura biosupresora-B. cinerea) en relación al número total de fuentes utilizadas por el patógeno filamentoso. Los valores de NOI>0.9 representan ocupación de mismo nicho (exclusión competitiva), y valores <0.9 representan ocupación de nichos separados (coexistencia).

Resultados: Cuatro pares interactuantes antagonista-hongo presentaron valores de NOI superiores a 0.9, lo que indica un elevado grado de similitud ecológica entre ellos (*S. cerevisiae* BSc60-*B. cinerea*B15 y B24; *H. uvarum* BHu 86-*B. cinerea* B15 y B24). El resto de las levaduras ensayadas presentaron valores de NOI entre 0.21 y 0.83, lo que indica coexistencia de los microorganismos ensayados (nichos separados).

Conclusiones: Las levaduras pertenecientes a los géneros *Saccharomyces* y *Hanseniaspora* consumieron las mismas fuentes carbonadas que el patógeno, lo que conlleva a una disminución de la disponibilidad de estos nutrientes para el patógeno. En consecuencia, este tipo de exclusión competitiva podría ser uno de los principales mecanismos de acción antagónico entre levaduras vitivinícolas y *B. cinerea*.

SAMIGE - Biotecnología y Fermentaciones

VI 215

0775 - PRODUCCIÓN DE BIOPOLÍMEROS CON POTENCIAL USO BIOTECNOLÓGICO UTILIZANDO *PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS* SLF-4 EN PRESENCIA DE DIFERENTES FUENTES DE CARBONO

TABARES, Emilce Laura [1] | BONILLA, José Oscar[2] | MASUELLI, Martín Alberto[1] | VILLEGAS, Liliana Beatriz[2]

FACULTAD DE QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS [1]; INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. [2]

Introducción y Objetivos: Los polisacáridos naturales son compuestos de interés creciente en la industria alimenticia. Una fuente natural de polisacáridos de interés biotecnológico, como los Exopolisacáridos (EPSs), son los procesos fermentativos generados con microorganismos del género Pediococcus. Estos polímeros exhiben una amplia variedad de estructuras químicas complejas, funciones fisiológicas y un amplio rango de potenciales aplicaciones. Por estos motivos, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la producción de EPSs por parte de *Pediococcus pentosaceus* SLF-4, a distintos tiempos de incubación y en presencia de diferentes fuentes de carbono.

Materiales y Métodos: La bacteria láctica *P. pentosaceus* SLF-4 fue aislada e identificada a partir de sedimentos de una zona industrial en la Provincia de San Luis, Argentina. Este microorganismo se cultivó en 50mL de Medio LB (g L^{-1}: Extracto de levadura 5,0; NaCl 5,0; Peptona de Carne 10,0) a 30°C y 200rpm, con una concentración inicial de $1x10^6$ células mL^{-1}, durante 48 o 96 h. La biomasa se separó por centrifugación a 15.000 xg durante 5min. El pellet celular se lavó dos veces con H_2O bidestilada y se determinó su contenido por peso seco a 65°C durante 24h. El sobrenadante libre de células se colocó en proporción 1:3 con Etanol al 96% e incubó a 4°C durante al menos 12h. Luego, se precipitó el contenido de EPSs a 4.500 xg, 25min y 4°C. El pellet obtenido se lavó dos veces con Etanol al 80% frío, se resuspendió en H_2O bidestilada y su contenido se determinó por peso seco. Tras seleccionar el tiempo de mayor producción, este mismo procedimiento se llevó a cabo utilizando Medio LB suplementado con 10 g L^{-1} de Lactosa (LB-Lactosa) o Sacarosa (LB-Sacarosa). Cada ensayo se realizó por triplicado.

Resultados: Los contenidos de biomasa y EPS obtenidos en medio LB basal a las 48h y a las 96h no mostraron diferencias significativas entre sí. Por este motivo, se decidió evaluar el rendimiento en la producción de EPSs a las 48h de cultivo, añadiendo diferentes fuentes de carbono. La biomasa obtenida no varió al suplementar el medio con Lactosa o Sacarosa, obteniéndose 0,1 g L^{-1} en todos los casos. Por otro lado, la producción de EPS en Medio LB fue de 300 ± 0 mg L^{-1}, mientras que se obtuvieron 400 ± 0 mg L^{-1} en Medio LB-Lactosa y 390 ± 20 mg L^{-1} en Medio LB-Sacarosa. Como se puede observar, se encontraron diferencias significativas en la producción de EPS entre el medio basal y los medios suplementados, obteniéndose un rendimiento 25% mayor con el agregado de disacáridos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas al añadir un disacárido o el otro.

Conclusiones: Estos resultados muestran que la producción de EPS por *P. pentosaceus* aumenta 25% al adicionar 1% de un disacárido al medio de cultivo, aun cuando el crecimiento celular es constante. Debido a su buen rendimiento, es una cepa de gran interés para estudios fisicoquímicos de polisacáridos con potencial uso biotecnológico.

VI 216

0780 - PERSPECTIVAS PARA LA UTILIZACIÓN DE LA BIOMASA DE CIANOBACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO COMO FERTILIZANTE ORGÁNICO Y ACONDICIONADOR DE SUELOS.

DO NASCIMENTO, Mauro | BATTAGLIA, Marina | SÁNCHEZ RIZZA, Lara | **AMBROSIO, Rafael** | ARRUEBARRENA DI PALMA, Andrés | CURATTI, Leonardo

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC - CONICET)

Introducción y Objetivos: El incremento de la población mundial genera una demanda creciente de alimentos, y para cubrir esta demanda, la utilización de mayores cantidades de fertilizantes, especialmente nitrogenados, ha sido una de las estrategias más utilizadas para incrementar los rendimientos de las cosechas. No obstante, el manejo inapropiado implica consecuencias perjudiciales para el medio ambiente y la salud humana. Promover la fijación biológica del nitrógeno (FBN) puede significar un aporte reduciendo la dependencia de fertilizantes nitrogenados, sin embargo, este proceso sólo podría cubrir una parte de la demanda requerida en la agricultura intensiva. La obtención de biomasa a partir de microorganismos que realicen la FBN para su utilización como biofertilizantes, es una alternativa promisoria especialmente si se puede acoplar al reciclado y mejoramiento de desechos agroindustriales. En este estudio se propone producir un biofertilizante orgánico y acondicionador de suelos, utilizando la biomasa de una cianobacteria fijadora de nitrógeno, obtenida a partir del reciclado y mejorado de la composición nutricional de un desecho agroindustrial.

Materiales y Métodos: La cianobacteria fijadora de nitrógeno Nostoc sp. M2 se cultivó a partir de la vinasa residual de la fermentación alcohólica de un sacarificado de biomasa algal. Las deficiencias en nitrógeno y fósforo en la vinasa pudieron ser suplementadas mediante la FBN y el agregado de harina de hueso respectivamente. La biomasa obtenida fue desecada y molida para su análisis como fertilizante de plantas de interés agronómico en suelos con diferentes contenidos de materia orgánica y diferentes regímenes hídricos. Además, se evaluó la persistencia de nutrientes y capacidad de retención de agua.

Resultados: El cultivo de Nostoc a partir de la vinasa alcanzó rendimientos similares a los obtenidos en medios de cultivo de referencia, y permitió la liberación de una considerable cantidad de expolisacáridos en el medio (superiores al 20% de la biomasa celular). La biomasa pudo sustituir la urea como fertilizante en suelos con bajo contenido de nutrientes, sosteniendo el crecimiento de plantas de trigo, maíz y poroto, especialmente en

condiciones de riego esporádico. Adicionalmente, se comprobó que la liberación de nitrógeno de la biomasa es más lenta que la urea, mejorando el aprovechamiento del mismo. La aplicación de la biomasa en suelos proporciona una mayor capacidad de retención de agua, previniendo el marchitamiento en plantas de trigo y permitiendo que puedan soportar periodos de estrés hídrico en sequía.

Conclusiones: Este estudio apoya la conveniencia de la producción de biomasa como biofertilizante de plantas y acondicionador de suelos, mejorando las condiciones del mismo especialmente en suelos pobres en materia orgánica y/o expuestos a condiciones de desecación o regímenes de precipitaciones semiáridas. A su vez, propone un procedimiento para reciclar y revalorizar desechos agroindustriales acoplándolo a plataformas de producción de microalgas y cianobacterias.

VI 217

0787 - EFECTO PROTECTOR DEL GLUTATIÓN SOBRE *OENOCOCCUS OENI* FRENTE A CONDICIONES DE ESTRÉS RELACIONADAS AL PROCESO DE VINIFICACIÓN

BENTENCOURT, Emilse | RAYA, Raúl | MENDOZA, Lucía M.

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Durante el proceso de vinificación al finalizar la fermentación alcohólica puede tener lugar una fermentación secundaria denominada fermentación maloláctica (FML). La FML consiste en la conversión del ácido L-málico en L-láctico y es un paso importante para obtener vinos de mayor calidad sensorial. Entre las bacterias lácticas de vino, *Oenococcus oeni* es la especie mejor adaptada y es casi exclusivamente usada como cultivo iniciador de la FML. Sin embargo, la viabilidad y actividad maloláctica de *O. oeni* en el vino dependen de su resistencia a diferentes factores de estrés como bajos valores de pH y elevadas concentraciones de etanol. El glutatión (GSH) es un tripéptido no-proteico que actúa como antioxidante y es considerado un agente protector frente a condiciones adversas. El objetivo de este trabajo fue evaluar si la adición de glutatión al medio de cultivo protege a O. oeni durante su crecimiento frente a factores de estrés como pH ácido, sulfitado y etanol.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 7 cepas de *O oeni* (5 autóctonas y 2 de colección), las cuales se cultivaron a 30 °C en medio MRS con y sin adición de GSH (5mM). El efecto protector del GSH frente a la acidez se estudió usando medios con pH 4 y 3,7 mientras que la protección al sulfitado y etanol se determinó agregando al medio de cultivo 50 mg/L de metabisulfito y 6 % de etanol, respectivamente. El crecimiento bacteriano se evaluó por lecturas de densidad óptica (DO600nm). En los vinos, la viabilidad de *O. oeni* se evaluó por recuento de células viables y el consumo de ácido L-málico con un kit enzimático.

Resultados: En presencia de GSH, todas las cepas de *O. oeni* presentaron mayor crecimiento cuando se inocularon en los medios con pH 4 y 3,7. El efecto positivo fue más marcado a mayor acidez, obteniéndose el doble de biomasa celular por la adición de GSH. En presencia de etanol, las cepas crecieron mejor cuando se adicionó GSH con un incremento del 40-50 % de la densidad celular. Al evaluar el efecto del sulfitado, las cepas solo crecieron en el medio adicionado con GSH después de 72 h de incubación. Durante la inoculación secuencial en vinos, se observó mejor viabilidad y FML cuando las cepas fueron previamente cultivadas con GSH.

Conclusiones: En base a los resultados se podría concluir que la adición de GSH al medio de cultivo mejora el crecimiento de diferentes cepas de *O. oeni*. Además la pre-adaptación cultivando la bacteria en condiciones de estrés con GSH permitió obtener células más resistentes que al ser inoculadas en vinos presentaron mayor viabilidad y actividad maloláctica. Por lo tanto, este paso de pre-adaptación podría ser una estrategia para mejorar la producción de biomasa de cultivos iniciadores que conduzcan exitosamente la FML.

VI 218

0788 - EFECTO DEL ÁCIDO P-CUMARICO SOBRE LA VIABILIDAD Y PRODUCCIÓN DE HISTAMINA DE *LACTOBACILLUS PARACASEI* AISLADO DE VINO DE TUCUMÁN.

LEDESMA, Silvana Cecilia | RUBIO, María Cristina | AREDES FERNÁNDEZ, Pedro

FACULTAD DE BIOQUIMICA QUIMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN

Introducción y Objetivos: En el proceso de vinificación, el desarrollo incontrolado de bacterias lácticas (BL) indeseables con actividad descarboxilante de aminoácidos libres pueden originar la formación de aminas biogénicas (AB), que a su vez pueden afectar la salud del consumidor y la calidad del producto final. La histamina es una de las principales AB presentes en vinos y puede producir trastornos alérgicos y vasculares. En la actualidad el agente antibacteriano comercial utilizado es el dióxido de azufre (SO_2), sin embargo, este químico puede ocasionar reacciones alérgicas e intolerancia en personas sensibles. Por tal motivo, la tendencia actual es la búsqueda de alternativas naturales para reemplazar o disminuir el uso del SO_2. En este sentido, los

compuestos fenólicos podrían representar una alternativa eficaz como agentes de biocontrol. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de ácido p-cumárico, compuesto fenólico habitualmente presente en vinos, sobre la viabilidad bacteriana y producción de histamina de *Lactobacillus paracasei* AT45, microorganismo reportado con actividad histidina descarboxilasa positiva, aislado de vino de Tucumán, Argentina. Se evaluó también el efecto conjunto en diferentes concentraciones del ácido p-cumárico y metabisulfito de sodio.

Materiales y Métodos: Los ensayos se realizaron en vino tinto comercial suplementado con ácido p-cumárico en concentraciones de 400, 200, 100, 50 mg/L, y metabisulfito de sodio en concentraciones de 80, 60, 40, 20 mg/L, en forma individual o combinada. *Lb. paracasei* AT45 se inoculó a una concentración de 10^7 ufc/mL, se incubó 96 h a 23°C y se tomaron muestras cada 48 h. La viabilidad se determinó mediante recuento de colonias en medio sólido. La concentración de histamina se cuantificó mediante un método colorimétrico reportado previamente y desarrollado por nuestro equipo de trabajo.

Resultados: En el medio control, el microorganismo disminuyó la viabilidad hasta 4,05 Log ufc/mL a 96 h, detectándose una concentración de histamina de 14,35 mg/L. En presencia de 200 mg/L de ácido p-cumárico o 40 mg/L de metabisulfito, se produjo inhibición total de crecimiento y no se detectó histamina en el medio. Al combinar ambos antibacterianos, la menor concentración a la que se produjo inhibición total del crecimiento fue la combinación de 100 y 20 mg/L para ácido p-cumárico y metabisulfito, respectivamente. Se estableció, mediante el cálculo del índice de concentración inhibitoria fraccional (ICIF) (isobologramas de Berenbaum) un efecto aditivo en la respuesta inhibitoria cuando se combinan ambos compuestos.

Conclusiones: El ácido p-cumárico podría llegar a ser una alternativa natural para reemplazar y/o disminuir el uso del metabisulfito de sodio comúnmente utilizado en la industria para el control de bacterias lácticas alterantes durante el proceso de vinificación o añejado de los vinos.

VI 219

0802 - EVALUACIÓN DE LA SELECTIVIDAD DE BIOCATALIZADORES TIPO BAEYER-VILLIGER MONOOXIGENASA IN VIVO E IN VITRO

CECCOLI, Romina D. [1] | BIANCHI, Dario A.[2] | RIAL, Daniela V.[1]

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO - CONICET [1]; INSTITUTO DE QUÍMICA ROSARIO (CONICET-UNR) - FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNR [2]

Introducción y Objetivos: El uso de biocatalizadores para aplicaciones en síntesis química es un recurso cada vez más explotado dado que las enzimas permiten llevar a cabo reacciones de forma selectiva, eficiente y amigable desde el punto de vista medioambiental. Las Baeyer-Villiger monooxigenasas (BVMOs) son flavoenzimas que catalizan la oxidación de cetonas lineales o cíclicas para producir ésteres o lactonas, respectivamente, que constituyen moléculas de interés tanto para la academia como la industria [1]. El objetivo de nuestro trabajo es caracterizar nuevas BVMOs a fin de ampliar el repertorio de biocatalizadores disponibles con potencial para su aplicación en síntesis química. Nuestro grupo ha clonado y expresado tres BVMOs tipo I divergentes de *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110 en *Escherichia coli*. En este trabajo se presenta una evaluación detallada de la regio- y/o enantioselectividad de las tres enzimas tanto en los sistemas *in vivo* como *in vitro*.

Materiales y Métodos: Mediante ensayos de biotransformación en células enteras recombinantes en condiciones de reposo, hemos evaluado la regio- y enantioselectividad de la reacción de cada BVMO frente a la cetona (±)-cis-biciclo[3.2.0]hept-2-en-6-ona. Los productos fueron analizados por cromatografía gaseosa y asignados utilizando biotransformaciones de referencia. Además, hemos purificado a homogeneidad las tres flavoenzimas, identificado sus flavinas y determinado sus coeficientes de absortividad molar. La actividad de las enzimas puras fue evaluada en ensayos *in vitro*, en los que se estudió la reacción de biooxidación de la cetona bicíclica, acoplada a un sistema regenerante de NADPH, mediante cromatografía gaseosa.

Resultados: *In vivo*, una de las BVMOs permitió obtener, por biooxidación de la cetona en estudio, dos regioisómeros enantioméricamente puros. Las otras dos BVMOs catalizaron la oxidación regioselectiva y enantiodivergente del sustrato bicíclico en los ensayos de resolución cinética dando lugar preferentemente a las lactonas anormales con alto grado de pureza óptica. Las tres enzimas puras evaluadas contenían FAD asociado no covalentemente y presentaron coeficientes de absortividad molar similares a los de otras flavoproteínas de la misma familia. Los experimentos in vitro, confirmaron las regioselectividades observadas *in vivo*.

Conclusiones: Estos nuevos biocatalizadores enriquecen así el alcance de las potenciales aplicaciones biotecnológicas. Referencia: 1. Ceccoli, R. D.; Bianchi, D. A.; Rial, D. V. Front. Microbiol. 2014, 5, 25. Financiamiento: CONICET y UNR, Argentina.

VI 220

0855 - DETERMINACIÓN DE VARIABLES RELEVANTES PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS PECTINOLÍTICAS, MEDIANTE FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE ORUJOS DE UVA TINTA Y ACEITUNA DE LA REGIÓN DE CUYO

BUSTOS, Luciana B | DURAN, Ludmila B | JIMENEZ PRIOR, Fátima | VALLEJO, Martha D | **RODRIGUEZ, Laura** | MARTÍN, María Lucía

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNSJ

Introducción y Objetivos: Las industrias elaboradoras de vino y aceite de oliva en la Región de Cuyo, generan grandes volúmenes de residuos sólidos estacionales, como orujos de uva, escobajo, alperujo y orujo de aceituna (OA). Su vertido en suelos y cursos de agua está prohibido y la legislación vigente indica tratarlo antes de su disposición final. Las Fermentaciones en Estado Sólido (FES) son aptas para decontaminar dichos residuos y valorizarlos obteniendo bioproductos, como enzimas pectinolíticas. La FES ofrece ventajas económicas y prácticas frente al cultivo sumergido, como la simplicidad del equipamiento, mayor concentración de producto, menor inversión de capital y bajos costos de operación en planta. En este tipo de fermentaciones, los aspectos ambientales y biológicos que influyen son numerosos. La identificación y control de los factores más importantes en una FES, es un requisito para lograr un determinado objetivo de producción. Una alternativa que permite definir la relevancia de un conjunto de factores (parámetros o variables) es el Diseño de Plackett-Burman (DPB). El objetivo de este trabajo fue encontrar las variables relevantes para la producción de un complejo enzimático, a través de FES con orujo de uva tinta (OUT) y OA por acción de A. niger, aplicando el DPB.

Materiales y Métodos: Se evaluaron diez variables en dos niveles, uno alto (+) y uno bajo (-). Las variables estudiadas fueron: tiempo de cultivo, fuente de N inorgánico (NI), fuente de N natural orgánico (NO), fuente de Fe natural, fuente de C (C), agregado de sustancia péctica, contenido inicial de agua del sustrato (H), extracción enzimática con buffer (EB), agregado de solución de micronutrientes (Na, P, Cl, K, Mg, Fe) y agitación (A). Se realizaron doce experiencias en cajas de Petri, por triplicado, combinando estas variables. Las respuestas consideradas fueron las actividades Exo-poligacturonasa (Exo-PG), Endo- poligacturonasa (Endo-PG) y Exo- polimetilgacturonasa (Exo-PMG), determinadas en los extractos acuosos de las FES. Las actividades Exo-PG y Exo-PMG se determinaron a 45 °C por métodos espectrofotométricos y Endo-PG, por seguimiento de viscosidad con viscosímetro de Ostwald.

Resultados: Las variables significativas (nivel de confianza 99%) fueron, para Endo-PG: H, con efecto positivo, cuando se incrementó su valor; NO, C y A con efectos negativos cuando se incrementaron; para Exo-PG: incremento de H y EB, con efecto positivo (nivel de confianza 90%); y para Exo-PMG: incremento en C, con efecto positivo y NI, con efecto negativo, con nivel de confianza 75%.

Conclusiones: Se concluye que las variables estudiadas mostraron diferentes efectos para cada una de las actividades enzimáticas. Para futuros estudios de optimización de la producción del complejo enzimático, es posible que se obtengan los caminos óptimos de las variables relevantes.

VI 221

0870 - DESARROLLO DE *BACILLUS PUMILUS* EMPLEANDO COMO MEDIO DE CULTIVO DESECHOS DE CULTIVO DE MANDIOCA (MANIHOT ESCULENTA CRANTZ)

LEGUIZAMÓN, Alejandro Javier [1] | ROMPATO, Karina Mariela[1] | AUDISIO, Carina[2]

LABORATORIO DE INVESTIGACION EN MICROBIOLOGÍA Y ALIMENTOS, FCS, UNAF [1]; INIQUI-CONICET, UNSA [2]

Introducción y Objetivos: Las hojas de mandioca son una buena fuente de proteínas, vitaminas y minerales. Por otro lado, como es un desecho de cultivo, podría ser usado en diferentes procesos fermentativos a fin de obtener compuestos bioactivos de interés o para la elaboración de piensos para animales. El género *Bacillus sp*. es considerado GRAS con excepción de las especies cereus y anthracis. Es utilizado en la industria para la producción de una amplia variedad de enzimas y otros metabolitos. Se han realizado numerosas investigaciones utilizando este género microbiano en procesos de fermentación líquida y sólida (FFS). En este sentido la FFS presentaría una ventaja sobre la primera debido al menor requerimiento energético y bajo costo, además de permitir el uso de desechos como sustrato. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el desarrollo de una cepa de *Bacillus* en fermentadores con harina de hojas de mandioca a distintas concentraciones de humedad.

Materiales y Métodos: Se evaluaron tres tipos de fermentación, líquida, semi-sólida y sólida, empleando como sustrato harina de hojas de mandioca cultivadas en la provincia de Formosa, al que se le adicionó distintos volúmenes de agua destilada para obtener los diferentes valores de humedad; 66% para la sólida, 80% para la semi-sólida y 90% para la líquida. Los fermentadores se inocularon con una cepa de B. pumilus y se incubaron durante 7 días a 37°C en condiciones de aerobiosis y sin agitación. Para valorar el desarrollo microbiano se realizó el recuento de células viables vegetativas y esporas. El análisis estadístico de los

resultados consistió en un ANAVA y prueba de comparación de medias según la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% utilizando el paquete estadístico INFOSTAT®.

Resultados: Los recuentos de células viables vegetativas de la cepa utilizada arrojaron valores promedio de 8,9 Log de UFC/g; 10,5 Log de UFC/g y 10,3 Log de UFC/g en las fermentaciones líquida, semi-sólida y sólida respectivamente. En el caso de los recuentos de esporas se obtuvieron valores promedio de 9,2 Log de UFC/g en fermentación líquida; 11,6 Log de UFC/g en la semi-sólida y 10,5 Log UFC/g en la fermentación sólida, a los 7 días de incubación. Al aplicar la prueba de Tukey a los resultados de las células viables no se obtuvieron diferencias significativas entre la fermentación semi-sólida y sólida, pero sí con respecto a la fermentación líquida. En el recuento de esporas, al aplicar la misma prueba estadística se observó diferencias significativas únicamente entre la fermentación semi-sólida y líquida.

Conclusiones: El mayor número de células vegetativas y esporas de B. pumilus se obtuvo en la fermentación semi-sólida con 80% de humedad al alcanzar los 10,5 Logs de UFC/g y los 11,6 Logs de UFC/g de muestra respectivamente. Estos resultados indican que la harina de hojas de mandioca permite un buen desarrollo de B. pumilus y constituye un sustrato adecuado para la producción de células viables y esporas en fermentación semi-sólida y sólida.

VI 222

0888 - PRODUCCIÓN DE BIOMASA EN SUERO DE QUESO EN POLVO DE *VISHNIACOZYMA VICTORIAE*: LEVADURA SELECCIONADA COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO.

GORORDO, Florencia [1] | DEL MONACO, Silvana[1] | LUCCA, Maria Ester[2] | SANGORRIN, Marcela Paula[1]

PROBIEN (CONICET-UNCO) NEUQUEN, ARGENTINA [1]; PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. [2]

Introducción y Objetivos: Las peras, al ser un producto perecedero, requieren de conservación en frío para su conservación por largos períodos para regular la oferta. No obstante, durante esta conservación la fruta es susceptible a enfermedades fúngicas. El Control Biológico resulta una alternativa para la substitución de fungicidas, con ventajas para la sostenibilidad ambiental y producción de fruta orgánica. En trabajos previos se seleccionó la levadura *V. victoriae* NPCC 1263 por su capacidad antagónica frente a enfermedades postcosecha de pera.

Materiales y Métodos: En este trabajo iniciamos la optimización de un nuevo medio de cultivo a partir de suero de queso en polvo (SQP), con la intención de reemplazar insumos costosos. Se realizaron fermentaciones en reactor batch (12 L), se evaluó el rendimiento (Yx/s) y calidad de la biomasa de levadura. Se ensayó para la conservación de las levaduras el secado por liofilización, con el objetivo de obtener un producto estable y que mantenga la efectividad antagónica. La viabilidad y efectividad antagónica, tanto de la biomasa fresca como deshidratada fue evaluada.

Resultados: En primer lugar se realizó un Diseño Estadístico Experimental para explicar la interacción de 5 factores en la producción de biomasa. Se establecieron 18 corridas a 20°C y 150 rpm: SQP (20; 30; 40 g/l), glucosa (20; 30; 40 g/l); KH2PO4 (0,5; 2,5; 5 g/l), SO4(NH4)2 (2; 6; 10 g/l) y MgSO4 (0,25; 1,25; 2,25 g/l) en 100 mL de medio. A partir de los resultados se seleccionó el siguiente medio de cultivo en g/l: 40 suero, 20 glucosa, 2 SO4(NH4)2, 5 KH2PO4 y 0,25 MgSO4. Este medio fue comparado con otros en cultivos de 100 mL con SQP (50 y 60 g/l), sin glucosa y las mismas sales. Se seleccionó el medio con 60 g/l de SQP por ser el que mayor biomasa produjo y fue empleado para crecer la levadura a nivel de reactor, obteniendo una biomasa de 9,9 g/l en peso seco, una velocidad específica de crecimiento (μ) de 0,05 h-1 y un Yx/s de 0,61 g/g. A partir de la biomasa obtenida de V. victoriae en reactor, se evaluó la conservación en fresco a 4°C durante un mes, en este período la viabilidad fue de 1% y 9% con sorbitol y glutamato respectivamente. Por otro lado se evaluó el secado por liofilización, por este procedimiento se obtuvo una viabilidad del 87% y 97% con los mismos crioprotectores. Las levaduras conservadas en las dos condiciones fueron evaluadas como antagonistas en heridas de peras frente a los patógenos Penicillium expansum y Botritys cinerea a 0°C. La biomasa de V. victoriae fresca fue evaluada en ensayos a escala semicomercial en línea de empaque de peras, rociando 108 cel/mL sobre 1000 frutos de peras. Los tratamientos fueron conservados en postcosecha en cámaras frías durante 5 meses. Estos ensayos permitirán establecer una condición ideal para el desarrollo de biomasa fresca y deshidratada.

Conclusiones: En un futuro *V. victoriae* podría ser utilizada como herramienta de biocontrol para las podredumbres postcosecha en la conservación de peras de producción orgánica en la región Norpatagonica.

VI 223

0905 - INMOVILIZACIÓN DE *WICKERHAMMOMYCES ANOMALUS* M10 PARA LA REMOCIÓN DE CR(VI)

CRUZ, Elías Leonardo | BERNAL, Anahí Romina | CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucía Inés | PAJOT, Hipólito Fernando | FERNANDEZ, Pablo Marcelo

PROIMI

Introducción y Objetivos: La biorreducción de Cr(VI) a la especie Cr(III), menos tóxica, es considerado como el proceso más efectivo, de bajo costo y una estrategia más ecoamigable para el tratamiento de aguas contaminadas con este metal. Bajo condiciones de inmovilización, las células microbianas son protegidas de la acción tóxica del cromato y, de este modo, mejoran la actividad celular en comparación con las células libres. La reducción de Cr(VI) por células inmovilizadas ha sido usada en diferentes sistemas como reactores de lecho empaquetado, biorreactores de membrana o columnas, operados en modo agitado, batch o continuo. Por esto, el objetivo del trabajo fue estudiar diferentes matrices para la inmovilización de la levadura autóctona Wickerhamomyces anomalus M10, para la reducción de Cr(VI) en reactor tipo Airlift.

Materiales y Métodos: Se evaluaron distintas matrices de entrampamiento celular (Alginato de Calcio [Al-Ca], Polivinil Alcohol-Borato, Polivinil Alcohol-Nitrato, y Agarosa-Alginato) de acuerdo a su capacidad para retener las levaduras y mantener su integridad a las 48 h de incubación. Se optimizó la proporción adecuada de los componentes de la matriz seleccionada y las relaciones volumétricas entre las perlas y el medio de cultivo (Vp/Vm). Se escaló a reactor tipo Airlift diseñado con tubos concéntricos y loop interno con un volumen de trabajo de 3 L. Después del proceso, se calculó la concentración remanente de Cr(VI) por reacción colorimétrica. Se evaluó la viabilidad celular y la morfología y esfericidad de las perlas. Se trabajó a 25 ºC y 250 rpm usando medio de cultivo Optimizado contaminado con 1 mM de Cr(VI).

Resultados: Al-Ca fue la matriz seleccionada para trabajar ya que fue la más eficiente para la reducción de Cr(VI) (91,2%), presentó muy bajo desprendimiento celular (42,5 ± 1,89 UFC.mL^{-1}) a las 48 h. La integridad de la perla se mantuvo por más de 30 d con un valor de esfericidad mayor a 0,95. Las proporciones más efectivas para la reducción del metal, la retención celular y la integridad de la matriz fueron: alginato de calcio 4% / cloruro de calcio 5%. Se ensayó inoculando con el doble de biomasa en perlas, lo que produjo un pérdida importante al medio de 3,2x10^{3} ± 56 UFC.mL^{-1}. Cuando se trabajó con Vp/Vm=1 se alcanzó una reducción del 92,36% de Cr(VI) a las 24 h, disminuyendo el tiempo de remoción a la mitad. Este sistema fue capaz de reducir 4 pulsos sucesivos de 1 mM de Cr(VI) entre los 16 d. Cuando se probó el sistema en reactor tipo Airlift se obtuvo una reducción de 83,46% a las 24 h de cultivo.

Conclusiones: De esta manera, W. anomalus M10 inmovilizada en perlas de Al-Ca, incrementó su eficiencia de remoción de Cr(VI) frente a un sistema de células libres, y pudo mantener su viabilidad por más tiempo. Esto trae importantes ventajas, como la reducción de mayor cantidad del metal reutilizando la biomasa y la independencia de sistemas de separación de biomasa/efluente final.

SAMIGE - Fisiología Microbiana

VI 224

0724 - NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOSINTETIZADAS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA SOBRE BIOFILM DE *CANDIDA TROPICALIS*

VEAS, Vanina Paola [1] | GALERA, Ivana Laura Delia[2] | ESTEVES VIDAL, Belén[3] | ALBORÉS, Silvana[3] | PAEZ, Paulina[4] | PARAJE, M. Gabriela[2]

CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA. [1]; IMBIV-CONICET. CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA [2]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, DPTO. DE BIOCIENCIAS, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR [3]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET [4]

Introducción y Objetivos: La formación de biofilm es un factor de virulencia complejo y su resistencia a los antifúngicos (ATF) frecuentemente utilizados en la clínica hace urgente la búsqueda de nuevas estrategias para combatirlos. Candida tropicalis es una de las especies fúngica aislada frecuentemente en Sudamérica. El uso de la nanotecnología ha sido sin dudas un factor clave en muchos campos y particularmente en la nano-medicina. La investigación en las nanopartículas (NP) como nano-antibióticos muestra resultados prometedores. Las NP obtenidas por síntesis biológica son una alternativa amigable con el ambiente y presentan interés para su exploración como posible antimicrobiano. Este trabajo estudió el efecto ATF de nanopartículas de plata (NP Ag) biosintetizadas, y fueron combinadas con Anfotericina B (AmB), un ATF utilizado para tratar infecciones por *Candida*, en busca de acciones sinérgicas.

Materiales y Métodos: Se utilizó AmB (98% pureza), la cepa de referencia *C. tropicalis* NCPF 3111 y las NP Ag biosintetizadas a partir de *Penicillium expansum*. Se estudió la concentración inhibitoria mínima (CIM) de las NP Ag (0,42-13,5 nM) y de AmB (0,03-16 µg/ml) de acuerdo con normas del CLSI norma M27-A3. Se combinaron diferentes concentraciones de los compuestos en placa de 96 pocillos, se cuantificó mediante la

tinción con cristal violeta (CV) y lectura espectrofotométrica, y se calculó el porcentaje de reducción (%R) sobre un biofilm de 48 h.

Resultados: Para las concentraciones ensayadas de NP Ag la CIM se determinó en 0,84 nM y en AmB fue en 0,25 µg/ml. Estudios de combinación sub CIM, CIM y supraCIM mostraron distintos %R. Los compuestos solos y su combinación mostraron los siguientes %R: 5% NP Ag (13,5 nM), 54% AmB (50 µg/ml) y la máxima reducción fue del 81% para la combinación NP Ag+AmB para estas concentraciones.

Conclusiones: Las NP Ag biosintetizadas mejoraron la acción ATF de AmB, pudiendo ser una estrategia prometedora para el tratamiento de infecciones fúngicas resistentes por la formación de biofilm.

VI 225

0761 - IDENTIFICACIÓN DE UNA NOVEDOSA ACIL ACP DESATURASA EN CEPAS DE *BACILLUS CEREUS*

MOYANO, Martina | TORRES MANNO, Mariano | ESPARIZ, Martín | ALTABE, Silvia

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos: *Bacillus cereus* "sensu lato" o sl. es un grupo bacteriano ecológicamente diverso que comprende un número creciente de especies, muchas de las cuales son de importancia médica o agrícola. Estas bacterias son capaces de crecer en un rango de temperaturas entre 4°C y 50°C. En base a esto, se las ha clasificado en siete "termotipos" que abarcan especies psicrotolerantes, mesófilas y termotolerantes. Estudios recientes sugieren que *B. cereus* ha ido adaptándose para crecer a temperaturas cada vez más bajas, evolución que tiene importantes implicancias en la Industria Alimenticia. A bajas temperaturas los organismos experimentan una importante disminución de la fluidez de membrana que afecta su funcionalidad. Las bacterias poseen la habilidad de ajustar dicha fluidez modulando la composición de ácidos grasos (AG) en respuesta a las fluctuaciones de temperatura. En bacterias Gram positivas el mecanismo más importante utilizado para este fin es la incorporación de insaturaciones a AG de membrana mediante el empleo de enzimas denominadas desaturasas.

Resultados: Para comprender el rol de la composición de AG en la adaptación a bajas temperaturas determinamos el patrón de AG de la cepa de *B. cereus* ATCC 10876 mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se identificaron AG insaturados (AGI) delta 5, delta10, productos de las desaturasas DesA y DesB ya caracterizadas y, llamativamente, AGI delta 9 aún no descriptos en Bacillus. El análisis bioinformático del genoma de esta cepa permitió identificar un marco abierto de lectura (ORF) anotado como una Acil ACP desaturasa (AAD). En plantas, este tipo de desaturasa sintetiza AGI-delta 9. Este ORF codificaría para una proteína de 310 AA que comparte con la AAD de plantas una identidad del 27% y 43% de similitud. El modelado estructural de esta proteína ajusta perfectamente con la estructura cristalina de la AAD de plantas, por lo que hipotetizamos que este ORF estaría codificando para una AAD que sería la responsable de las síntesis de los AGI-delta 9. Este tipo de desaturasa ha sido descripta únicamente en plantas y micobacterias por lo que decidimos establecer la relación entre la presencia de la misma y la capacidad de crecer a bajas temperaturas en distintas cepas del grupo B. cereus. A su vez, hemos iniciado su caracterización bioquímica. Mediante estudios filogenómicos de 2160 cepas de *B. cereus* establecimos que la distribución de los genes de la AAD no coincide con la historia evolutiva del grupo, sugiriendo eventos de transferencia horizontal. Avalando esta hipótesis, se identificó la presencia del gen de la ADD en al menos nueve plásmidos distintos, los cuales poseen asociados el gen cpsA que codifica para una proteína inducida significativamente en respuesta al estrés por frío (cold shock protein).

Conclusiones: Estas observaciones sugieren una correlación entre la presencia de dichos genes y la adaptación de estas cepas a menores temperaturas de crecimiento.

VI 226

0764 - CUANTIFICACIÓN POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE EXPLORACIÓN LASER DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PRODUCIDA POR NANOPARTÍCULAS DE PLATA SOBRE BIOFILM FÚNGICO

VEAS, Vanina Paola [1] | QUINTEROS, Melisa[2] | ESTÉVEZ VIDAL, M. Belén[3] | ALBORÉS, Silvana[3] | PAEZ, Paulina[4] | PARAJE, M. Gabriela[2]

CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA. [1]; IMBIV-CONICET. CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA [2]; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, DPTO. DE BIOCIENCIAS, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR [3]; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET [4]

Introducción y Objetivos: La incidencia de la infecciones por *Candida* se ha incrementado en la última década, asociada muchas veces a la presencia de biofilms en implantes, prótesis y catéteres; agravado por la frecuente resistencia a los agentes quimioterápicos utilizados en la clínica. Se ha tratado de contrarrestar con dosis más altas de antifúngicos (ATFs) o con terapia combinada, con los riesgos de efectos adversos que esto implica. Por este motivo esta temática requiere la investigación y búsqueda incesante de nuevas drogas antifúngicas. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que nanopartículas de plata (NP Ag) biosintetizadas a partir de Penicillium expansum poseen actividad antibiofilm sobre *Candida tropicalis*. El objetivo de este trabajo fue profundizar dicho estudio cuantificando mediante Microscopia Confocal de Exploración Laser (MCEL) distintos parámetros de la topografía y estructuras del biofilm tratado con estas NP solas y combinadas con Anfotericina B (AmB).

Materiales y Métodos: Se utilizó AmB (50µg/ml), las NP Ag biosintetizadas (13,5nM) y su combinación, sobre biofilm maduro de a *C. tropicalis* NCPF 3111. La formación de biofilm y el correspondiente tratamiento antifúngico se realizó sobre discos de vidrio en microplacas de 12 pocillos. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante y las muestras se tiñeron con Calcofluor White (0,05%v/v) el cual tiñe de azul la pared celular y la matriz exopolisacárida del biofilm fúngico. Las imágenes resultantes se procesaron con el programa ImageJ, por el cual se generó la vista del plano XY y ortogonal, y la reconstrucción en tres dimensiones de las distintas condiciones. Además, mediante el software COMSTAT se obtuvieron los siguientes parámetros cuantitativos: biomasa, espesor, coeficiente de rugosidad y distancia de difusión de las condiciones de los compuestos solos y de la combinación NP Ag+AmB. El análisis estadístico se realizó con el programa Infostat mediante ANOVA seguido del test Tukey con nivel de significación $p<0,05$.

Resultados: Los parámetros cuantificados mostraron los siguientes resultados: biomasa ($\mu m^3/ \mu m^2$) 22,42 y 1,44; espesor (µm) 23,08 y 1,50; coeficiente de rugosidad (Ra^*) 0,05 y 1,76 y distancia de difusión (µm) 1,91 y 0,37, para las condiciones control no tratado y con NP Ag+AmB, respectivamente. Para biomasa y espesor se calculó una reducción del 94%, este resultado tiene concordancia con lo encontrado por otras metodologías. El coeficiente de rugosidad aumentó y la distancia de difusión presentó una marcada disminución, parámetros que demuestran las alteraciones en la estructura del biofilm.

Conclusiones: Estos resultados corroboran la actividad anti-biofilm de las NP Ag en una cepa de *C. tropicalis*, mostrando alteraciones topográficas y estructurales. Por lo tanto, alientan a seguir estudiando en profundidad el mecanismo de acción de este compuesto como posible alternativa para el tratamiento de infecciones por cepas de *Candida* formadoras de biofilm.

VI 227
}0783 - REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE LÍPIDOS EN BACTERIAS GRAM-POSITIVAS

MACHINANDIARENA, Federico | DE MENDOZA, Diego | ALBANESI, Daniela

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos: Las bacterias controlan estrictamente la síntesis de los fosfolípidos de membrana, pero aún se desconocen en detalle los mecanismos regulatorios subyacentes. En *Bacillus subtilis*, paradigma de las bacterias Gram-positivas, los ácidos grasos (AG) son producidos por la sintetasa tipo II (FASII) que consiste en un ciclo de reacciones repetitivas. En la FASII, las cadenas de acilo intermediarias son transferidas de una enzima a la otra unidas covalentemente a la proteína transportadora de acilos (ACP). El malonil-CoA, sintetizado por la enzima acetil-CoA carboxilasa (ACC), es un intermediario clave de la biosíntesis de AG en todos los organismos vivos. Cuando los acil-ACPs alcanzan el largo adecuado son utilizados como sustrato por las enzimas responsables de la síntesis de fosfolípidos (SFL): PlsX (acil-ACP:PO_4 aciltransferasa), PlsY (acil-PO4:glicerol-PO_4 aciltransferasa) y PlsC (acil-ACP:1-acilglicerol-PO_4 aciltransferasa). En nuestro laboratorio, se demostró que en *B. subtilis* la FASII y la SFL están acopladas en el paso catalizado por PlsX. En ausencia de esta enzima tanto la SFL como la biosíntesis de AG se detienen. Es por eso que en este trabajo nos planteamos investigar el mecanismo implicado en este acoplamiento.

Materiales y Métodos: Con este fin, utilizamos una cepa mutante de *B. subtilis* que expresa al gen *plsX* en forma condicional. Se extrajeron y analizaron las distintas especies de CoA en presencia y ausencia de PlsX por HPLC-MS/MS de triple cuadrupolo. A su vez, investigamos el estado de acilación de la ACP en ambos casos mediante electroforesis en geles de poliacrilamida conformacionales y posterior western blot, utilizando anticuerpos policlonales anti-ACP de *B. subtilis*. Finalmente, estudiamos la biosíntesis lipídica en la mencionada mutante mediante el marcado de los cultivos con [^{1}4C]-acetato en presencia y ausencia de una tioesterasa soluble ('TesA) que hidroliza los acil-ACPs.

Resultados: Determinamos que en ausencia de PlsX *B. subtilis* acumula acil-ACPs de cadena larga, los que han sido propuestos en la literatura como inhibidores de retroalimentación negativa de la FASII. Llamativamente, detectamos que en ausencia de PlsX también se acumula malonil-CoA. A su vez, observamos que la hidrólisis de los acil-ACPs al expresar 'TesA no libera completamente la inhibición de la síntesis de AG en ausencia de PlsX. Por otro lado, determinamos que las mutantes en las otras dos enzimas involucradas en la síntesis de fosfolípidos, PlsY y PlsC también acumulan acil-ACPs de cadena larga, mientras la síntesis de AG continúa activa.

Conclusiones: Podemos concluir que en *B. subtilis*: i) la inhibición de la síntesis de fosfolípidos debido a la ausencia de PlsX provoca la acumulación de acil-ACPs de cadena larga, ii) la inhibición de la síntesis de AG observada en ausencia de PlsX no se debe a una represión de la actividad de la ACC, como se había sugerido y iii) los acil-ACPs de cadena larga no serían inhibidores por retroalimentación negativa de la ACC ni de la FASII.

VI 228

0857 - ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICA (EHEC): ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN Y FUNCIONALIDAD DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO III

MONTAÑEZ-CULMA, Johanna[1] | BERNAL, Alan Mauro[1] | FUENTES, Federico[1] | BRUBALLA, Andrea[1] | PINEDA, Gonzalo[1] | RAMOS, María Victoria[1] | MCATEER, Sean[2] | GALLY, David[2] | PALERMO, Marina[1] | **FERNANDEZ-BRANDO, Romina Jimena** [1]

LABORATORIO DE PATOGÉNESIS E INMUNOLOGÍA DE PROCESOS INFECCIOSOS, IMEX-CONICET-ANM [1]; DIVISION OF INFECTION AND IMMUNITY, THE ROSLIN INSTITUTE, UNIVERSITY OF EDINBURGH. [2]

Introducción y Objetivos: Los genes para las toxinas Shigas (Stx) están codificados en bacteriófagos lamboides que lisogenizan a las *Escherichia coli* enterohemorrágicas (EHEC), constituyendo un factor determinante en el desarrollo del Síndrome Urémico Hemolítico; sin embargo, la capacidad para la formación de lesiones características de attaching and effacement (A/E) en el epitelio intestinal, debido a la actividad del Sistema de Secreción Tipo III (T3S), establece un factor esencial en la adherencia y colonización de EHEC. El T3S se expresa desde la isla de patogenicidad Locus of enterocyte effacement (LEE), en donde el regulador Ler, codificado en el primer operon controla la transcripción de los demás operones (LEE2-5). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto que tiene in vitro e in vivo la sobreexpresión del regulador Ler del T3S en cepas EHEC.

Materiales y Métodos: Transformamos con un plásmido que codifica para el regulador interno del LEE (Ler) dos cepas EHEC una productora de Stx2, aislada en humanos (125pLer) y su isogénica mutante que no expresa Stx2 (ΔStx pLer). Como control usamos el mismo plásmido sin la secuencia de Ler (125pW y ΔStx pW). Analizamos la expresión de proteínas del T3S mediante SDS-PAGE y Western blot (Esp B/D), la adhesión bacteriana in vitro a células epiteliales intestinales (HCT-8 y Caco-2), la colonización bacteriana in vivo en un modelo murino de SUH por inoculación intragástrica de las cepas clonadas y la motilidad mediante pruebas microbiológicas.

Resultados: Observamos un aumento en la expresión de Esp B/D en 125pLer y ΔStx pLer por SDS-PAGE y WB, además 125pLer mostró mayor adhesión a células HCT-8 y Caco-2 con respecto a las demás cepas, evidenciado también por microscopia confocal (% de adherencia±DS: HCT-8 = 125pLer: 69±2; 125pW: 20±3; ΔStx pLer: 35±1; ΔStx Pw: 15±1; Caco-2 = 125pLer: 49±1; 125pW: 10±1; ΔStx pLer: 36±4; ΔStx Pw: 12±1; ANOVA $p<0.05$). Así mismo, se encontraron diferencias en la colonización entre las cepas en Materia fecal (MF) log UFC/g y en Intestino Grueso (IG), Intestino Delgado (ID) y Ciego (C) log UFC/cm (Media±ESM) 125pLer MF: 3,3±0,4 IG: 3,7±0,3 ID: 4,2±0,3 C: 3,9±0,4; 125pW: MF: 2,3±0,4 IG: 3,2±0,3 ID: 4,3±0,3 C: 3,0±0,4; ΔStx pLer: MF: 3,7±0,3 IG: 3,7±0,4 ID: 3,5±0,6 C: 3,3±0,7; ΔStx Pw: MF: 2,1±0,4 IG: 2,7±0,5 ID: 2,9±0,5 C: 3,3±0,7; ANOVA p0.012). Igualmente se vio que 125pLer produjo mayor mortalidad en un modelo murino (% de mortalidad: 125pLer: 100; 125Pw:60 Log-rank $p<0.05$). Las pruebas de motilidad mostraron mayor diámetro (mm) a las 48 hs en las cepas que no tenían sobreexpresión de Ler (media±ESM: 125pLer: 34±6; 125pW: 45±8; ANOVA $p<0.05$; ΔStx pLer: 37±8; ΔStx Pw: 80±3; ANOVA $p<0.05$).

Conclusiones: La sobreexpresión de Ler favorece el aumento de la producción de proteínas del T3S que, por un lado, lleva a una disminución en la motilidad y, por otro lado, a una mayor adhesión bacteriana y colonización intestinal. Todas estas observaciones en conjunto determinan un aumento en la patogenicidad in vivo.

VI 229

0881 - EFECTO ANTIFÚNGICO DE LA COMBINACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON ANFOTERICINA B EN BIOFILMS DE *CANDIDA GLABRATA*

GALERA, Ivana Laura Delia [1] | PAEZ, Paulina[2] | PARAJE, Maria Gabriela[3]

CÁT. DE MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / CONICET, IMBIV. [1]; CÁT DE MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNC / DPTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS UNC / CONICET, UNITEFA [2]; CÁT. DE MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / CONICET, IMBIV. [3]

Introducción y Objetivos: *Candida* es un patógeno oportunista que provoca infecciones superficiales y sistémicas en el hospedero, siendo una causa importante de morbi-mortalidad. *Candida glabrata* es una levadura emergente, frecuentemente aislada en candidiasis, candiduria y micosis sistémicas. La formación de biofilm le otorga patogenicidad y resistencia, lo que podría conducir al fracaso de distintas estrategias

terapéuticas. Los avances en nanoantimicrobianos son prometedores; recientemente se ha informado sobre la actividad antifúngica de nanopartículas de plata (NPsAg) en algunas especies de *Candida* en estado planctónico, la acción bactericida y la virucida. Sin embargo, poco se ha reportado sobre su efecto antibiofilm. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las NPsAg biosintetizadas y en combinación con Anfotericina B (AmB) sobre el biofilm inicial y maduro de *C. glabrata*.

Materiales y Métodos: La concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) de NPsAg y AmB para células planctónicas de *C. glabrata* ATCC 2001, se determinaron mediante el método de microdilución en caldo para levaduras según CLSI M27-4ˆta ed. Los porcentajes (%) de inhibición y de erradicación del biofilm se evaluaron sobre las etapas iniciales de la formación de biofilm y sobre el biofilm maduro (48 h) en placa de 96 pocillos, siendo expuesto a AmB (400CIM) y a concentraciones de NpsAg (supraCIM, CIM y subCIM). Además se realizaron combinaciones a diferentes concentraciones de NpsAg (25CIM, 50CIM y 100CIM) con diferentes concentraciones de AmB (100CIM, 200CIM y 400CIM). Se realizó tinción con cristal violeta definiendo 0,1 $DO_4$92nm = 1 Unidad de Biomasa de Biofilm. El número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) se obtuvo por recuento de células viables del biofilm en las distintas condiciones.

Resultados: El mismo valor CIM y CFM fue encontrado para NPsAg (0,125 pM) y AmB (5,4 x 10^5 pM). El % de inhibición del biofilm fue del 85 % para NPsAg y AmB (100 y 400 CIM respectivamente), no mostrando inhibición significativa en las combinaciones. Las NPsAg tuvieron un % de erradicación del biofilm maduro del 70% para la concentración 600 CIM y 40% para 100 CIM, mientras que AmB (400CIM) alcanzó el 65%. Con la combinación de NPsAg y AmB (100 CIM NPsAg y 400 CIM AmB) se obtuvo un 87%. Los resultados del recuento de UFC/ml en biofilm de C. glabrata tratado, mostraron una buena correspondencia con el % de erradicación del biofilm ensayado con cristal violeta.

Conclusiones: Se demostró actividad fungicida de NpsAg en *C. glabrata* y se logró mayor reducción del biofilm maduro cuando se expuso a combinaciones de NPsAg con AmB. Estos resultados son prometedores, ya que lograr sinergia entre Amb y NPsAg podría contribuir a una estrategia antibiofilm. Además, se abren nuevas perspectivas para próximas investigaciones, donde las NPsAg podrían ser antifúngicos efectivos para la prevención o el tratamiento de infecciones causadas por *Candida.*

VI 230

}0995 - ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE NUEVOS DERIVADOS DE OLIGOESTIRILBENZENOS EN *CANDIDA TROPICALIS*

DE LERA GARRIDO, Fernando J.[1] | QUINTEROS, Melisa[2] | TOLOSA, Juan[3] | GARCÍA MARTÍNEZ, Joaquín C.[4] | PARAJE, María Gabriela[5] | **PAEZ, Paulina** [6]

FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA / CRIB [1]; CAT. MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA /CONICET, IMBIV. [2]; FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA / CRIB [3]; FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA / CRIB [4]; CAT. MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA /CONICET, IMBIV. [5]; DEPTO. DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, FCQ, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA /CONICET, UNITEFA. [6]

Introducción y Objetivos: Desde los años 80 se viene evidenciado una disminución en el desarrollo de nuevos antimicrobianos de aplicación clínica, con un escaso crecimiento del abanico terapéutico contra afecciones fúngicas. Sin embargo, en los últimos años el aumento de la incidencia de las candidiasis y su impacto en la morbi-mortalidad viene asociado al incremento de la resistencia a los tratamientos actuales por diferentes mecanismos, donde cepas de *Candida* no *albicans* han incrementado su prevalencia. En este trabajo se ha evaluado cómo con la modificación discreta de estructuras derivadas de oligoestirilbenceno (OSB), pueden generar actividad antifúngica contra *Candida tropicalis*.

Materiales y Métodos: La síntesis de los diez dendrímeros candidatos a evaluar se realizó utilizando la reacción de Horner-Wadsworth-Emmons obteniendo una estructura rígida y conjugada en el núcleo, que concede excelentes propiedades fluoroscópicas. Así los cambios en la periferia, y las propiedades derivadas, serán las únicas variables en estudios de correlación entre la estructura y la actividad. Posicionando aminas cuaternizadas, diferentes azoles, o ácidos bóricos; se diversificaron las longitudes de onda espectroscópicas y se exploraron distintos grupos funcionales que ya han sido descritos por su potencial acción antifúngica, en la búsqueda de los mejores candidatos. La determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) se realizó siguiendo los estándares del Clinical and Laboratory Standards Institute "M27 4^{T}h ed." sobre *C. tropicalis* NCPF 3111. Partiendo de un cultivo "overnight" se preparó un inóculo 0,5 según escala McFarland que se diluyó 1:1000 en RPMI, los compuestos se disolvieron en la cantidad mínima necesaria de dimetilsulfóxido (DMSO). Diluciones seriadas de los compuestos en RPMI (0,98 µg/ml a 2000 µg/ml) se añadieron en una microplaca de 96 pocillos, tras lo que se adicionó 100 µl del inóculo y se incubó 48 h a 37 °C. Además, se realizaron las correspondientes curvas de muerte durante 24 h partiendo de un inóculo de 10^6 UFC/ml.

Resultados: La CIM y CFM para los cuatro compuestos con óptima solubilidad en medio de cultivo fue de 32 µg/ml o de 500 µg/ml, dependiendo del OSB. En las curvas de muerte se observó a las 24 h una reducción de tres órdenes de magnitud con respecto al inóculo inicial.

Conclusiones: Los resultados mostraron que, aunque un importante factor limitante de algunos compuestos fue su baja solubilidad en DMSO y/o medios acuosos, aquellos que lo superan son excelentes candidatos para continuar su estudio en células planctónicas y sobre biofilms en esta u otras especies levaduriformes.

SAMIGE - Interacción Procariota- Eucariota

VI 231
0463 - DIFERENCIACION DE CÉLULAS THP-1 INDUCIDA POR BIFIDOBACTERIAS

ASSAD, Sabrina[1] | **MINNAARD, Jessica** [2] | PÉREZ, Pablo Fernando[2]

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN CRIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (CONICET-LA PLATA) [1]; CIDCA (CONICET, CICPBA Y UNLP) / CÁTEDRA DE MICROBIOLOGIA GENERAL (FCE, UNLP) [2]

Introducción y Objetivos: Los probióticos modulan la respuesta inmune del huésped. Las cepas de *Bifidobacterium* utilizadas en este trabajo han demostrado estimular diferencialmente la fagocitosis y expresión de HLADR y TLR2 en células THP1 diferenciadas con acetato de forbol miristato (PMA) (THP1PMA). El objetivo de este trabajo fue caracterizar las células estimuladas con bifidobacterias a través del estudio de la expresión de marcadores de superficie.

Materiales y Métodos: Se utilizaron dos cepas: *B bifidum* CIDCA 5310 y *B adolescentis* CIDCA 5317 crecidas en anaerobiosis (MRS, 24 h,37°C) y monocitos en cultivo THP1 diferenciados durante 48 hs con PMA 200 nM. Luego, en las mismas condiciones de cultivo, las células se estimularon 18 hs con cada una de las cepas en una multiplicidad de infección de 10, y LPS 0,5 µg/ml e IFN gamma 7500 U/ml, o IL-4 para realizar la marcación con anticuerpos anti CD16, CD64, CD163 o CD206. La expresión se evaluó por citometría de flujo y se calculó el índice de fluorescencia media (IFM)= Porcentaje de células positivas (FITC o PE) x media de intensidad de fluorescencia. Se incluyeron los controles de isotipo y el basal.

Resultados: Los resultados obtenidos en las células THP1PMA estimuladas con IFN gamma y LPS y la cepa CIDCA 5310 mostraron un aumento del valor de IFM para la expresión de CD16 (10795,03 ± 863,27, P< 0,05) respecto al control sin bacteria (5457,87 ± 400,18); cuando se evaluó CD64 ambas cepas disminuyeron los valores de IFM respecto al control (3532,04 ± 14,42), con valores de 2455,04 ± 222,94 para la cepa CIDCA 5317 (P< 0,05) y 2511,02 ± 378,00 para la cepa CIDCA 5310 (P=0,06). Para este último marcador, en ausencia de la diferenciación previa con PMA, no se encontraron diferencias entre el control de IFN gamma + LPS (7511,72 ± 1092,05) y la estimulación con la cepa CIDCA 5310 (6820,32 ± 345,28) o la cepa CIDCA 5317 (7665,94 ± 68,19). Cuando las células THP1PMA se estimularon con IL-4, el valor de IFM para CD163 fue de 3982,77 ± 153,01 y para CD206 fue de 265,78 ± 83,73. El estímulo con la cepa CIDCA 5310 produjo un aumento de los valores de IFM (P < 0,05) (4740,94 ± 272,40 y 799,17 ± 96,78, respectivamente para cada marcador). La cepa CIDCA 5317 mostró el mismo comportamiento (4613,41 ± 285,38, P<0,05 y 414,17 ± 54,18, respectivamente para CD163 y CD206). Cuando se evaluó CD206 en ausencia de diferenciación con PMA, sólo la cepa CIDCA 5310 aumentó la expresión (2921,89 ± 32,00, P<0,05) respecto al control sin cepa (1630,85 ± 29,48).

Conclusiones: Los resultados muestran un perfil de diferenciación de las células THP1 dependiente de la cepa: CIDCA 5310 potencia la expresión de marcadores M1 y M2 mientras que la cepa CIDCA 5317 sólo potencia la expresión de marcadores M2.

VI 232
0669 - MITIGACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO DE SCENEDESMUS OBLIQUUS POR PARTE DE *AZOSPIRILLUM BRASLENSE*

PAGNUSSAT, Luciana Anabella [1] | MARONICHE, Guillermo[1] | FERNÁNDEZ, Macarena[1] | CURATTI, Leonardo[2] | CREUS, Cecilia[1]

CONICET / FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS (UNMDP) [1]; INBIOTEC, MAR DEL PLATA, ARGENTINA [2]

Introducción y Objetivos: La utilización de microalgas para la producción de biodiesel, constituye una alternativa sustentable a la utilización de combustibles fósiles, que demanda investigación y desarrollo de tecnologías para su perfeccionamiento. Se ha comprobado que en situaciones de estrés de nutrientes, las microalgas generan gran cantidad de triacilglicéridos (TAGs) que se acumulan en nuevos cuerpos lipídicos. El

desafío actual es generar condiciones de crecimiento que permitan la obtención de niveles de biomasa más elevados en condiciones de sustentabilidad económica y ambiental. Las rizobacterias del género *Azospirillum* spp. son promotoras del crecimiento vegetal que presentan una elevada producción de auxinas, principalmente a través de la enzima indol-3-piruvato decarboxilasa (codificada por el gen ipdC). El Objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la coinoculación de la microalga *Senedesmus oblicuus* con *A. brasilense* sobre el estatus oxidativo de la microalga en condiciones de deficiencia de nitrógeno.

Materiales y Métodos: Microalgas (*S. obliquus* C1S) fueron cocultivadas con cepas de *A. brasilense* salvaje, mutante en el gen ipdC (AIAd) y con una cepa que contiene un plásmido que restituye su capacidad para producir auxinas (cepa AIAdpipdC) durante 3 y 8 días. Posteriormente se cuantificaron especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelulares en las microalgas mediante incubación con el marcador fluorescente de ROS H2DCFDA (Thermo) y cuantificación mediante lector de fluorescencia Floroskan (Ex: 485 nm Em: 525 nm).

Resultados: Cuando las microalgas fueron coinoculadas con las cepas de *A. brasilense* salvaje y AIAdpipdC pudo observarse un menor contenido de ROS que en el tratamiento control. Por otra parte, el contenido de ROS en las microalgas coinoculadas con la cepa de *A. brasilense* AIAd fue similar al tratamiento control.

Conclusiones: La coinoculación de S. obliquus C1S con la bacteria *A. brasilense* mejora el estatus oxidativo de la microalga. Dicho efecto sería dependiente de la capacidad de la bacteria para producir auxinas. Avanzar en el conocimiento de los mecanismos subyacentes a esta respuesta tendrá importantes implicancias en el cultivo extensivo de microalgas.

VI 233

0804 - ROL DE LAS PROTEÍNAS PII EN LA INTERACCIÓN DE *BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS* USDA 110 CON PLANTAS DE SOJA

LAMELZA, Florencia | HEGEL, Valeria Alejandra | MENGUCCI, Florencia | **LÓPEZ GARCÍA, Silvina Laura**

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: Las proteínas PII son una familia de proteínas de transducción de señales esenciales en la coordinación de la regulación de diversos procesos que conectan el metabolismo del N y del C intracelular. Estas proteínas se dividen en dos subfamilias denominadas GlnB (codificada por el gen glnB) y GlnK (codificada por el gen glnK), muy similares entre ellas y con una versatilidad funcional muy llamativa, teniendo roles completamente diferentes, aunque a veces pueden reemplazarse en sus funciones. En el genoma de B. diazoefficiens USDA 110, rizobio que fija N_2 atmosférico en asociación simbiótica con plantas de soja, encontramos una copia de glnB y dos copias de glnK que denominamos $glnK_1$ y $glnK_2$. En general, los rizobios tienen sólo una copia de glnK, por lo que nos propusimos investigar si las dos copias son funcionales, y si es así cuál es el rol que cumple cada una de ellas, junto con GlnB, en esta bacteria. Un aspecto importante de la fijación biológica de N_2 (FBN) es que este proceso es independiente de la regulación del metabolismo de N de la bacteria en vida libre, sugiriendo que las proteínas PII no serían necesarias para llevar a cabo una simbiosis eficiente. Sin embargo, en algunos rizobios se ha observado que la deleción de GlnB o de GlnK afecta la formación de nódulos y la fijación de N. Dado que la función de las diferentes PII en B. diazoefficiensen simbiosis aún no ha sido descripta, en este trabajo nos propusimos evaluar el fenotipo de cada una de las cepas mutantes en GlnB, $GlnK_1$ y en $GlnK_2$ en su interacción simbiótica con plantas de soja.

Materiales y Métodos: En primer lugar, se obtuvieron mutantes limpios en las tres proteínas PII de B. diazoefficiens denominados "DELTA"$glnK_1$, "DELTA"$glnK_2$, "DELTA"glnB. Posteriormente, se llevaron a cabo ensayos con plantas de soja, en los cuales se evaluó la nodulación, la asimilación de N y la capacidad fijadora de N. Los resultados fueron analizados en un análisis de varianza con $p<0,01$ utilizando el test de Tukey. Finalmente, se analizó la estructura de los nódulos invadidos por los diferentes mutantes.

Resultados: Los resultados obtenidos demostraron que solo las plantas inoculadas con la cepa mutante "DELTA"glnB mostraron alteraciones en los parámetros simbióticos en relación a las plantas inoculadas con la cepa salvaje. Así, observamos una menor infectividad (menor número de nódulos por planta), con nódulos pequeños y blanquecinos (indicio de una alteración en la FBN), un menor desarrollo de la parte aérea y, por último, una disminución en la asimilación de N. Asimismo, la ausencia de GlnB así como también la ausencia de $GlnK_1$, condujo a una menor ocupación de los nódulos. Sin embargo, la menor ocupación observada en los nódulos ocupados por la cepa "DELTA"$glnK_1$ no afectó la FBN ni la asimilación de N. Finalmente, el análisis microscópico de los nódulos demostró que la deleción de cualquiera de las PII condujo a una acumulación de gránulos de almidón en el interior de las células vegetales.

Conclusiones: Todas las proteínas PII de *B. diazoefficiens* USDA 110 se encuentran involucradas en el metabolismo del C del bacteroide, siendo solo GlnB la que cumple un rol fundamental en el desarrollo del nódulo y la supervivencia del bacteroide dentro del mismo.

VI 234

0978 - LA INOCULACIÓN CON *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* INCREMENTA LA ACTIVIDAD DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE DE LECHUGA CRECIENDO BAJO ESTRÉS SALINO

CASANOVAS, Elda Mabel | TAJAN, Carlos | SANTA CRUZ, Juan Francisco | VERKUYL, Melanie

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA (UNMDP), BALCARCE, ARGENTINA

Introducción y Objetivos: Los efectos primarios de la salinidad generan desequilibrios entre la producción de especies reactivas de oxígeno (EAO) y su neutralización por mecanismos antioxidantes. Resultados preliminares indican que la inoculación de lechuga con la bacteria *A. brasilense* Sp 245 mitiga los efectos deletéreos del estrés salino sobre el crecimiento vegetal, con disminución del daño oxidativo. El objetivo de este trabajo fue estudiar si el menor daño oxidativo descripto en plantas de lechuga inoculadas con *A. brasilense* creciendo en condiciones de salinidad se asocia a incrementos en la actividad antioxidante.

Materiales y Métodos: Semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Elisa) se esterilizaron superficialmente y luego se inocularon con 10^9 células de *A. brasilense* Sp245.semilla^-1 (I), o con buffer fosfato (C). Se sembraron en contenedores de 330 cm^3 y se cultivaron a 25°C con 12 horas de fotoperíodo. A los 20 días desde la siembra se aplicaron los tratamientos de estrés salino mediante riego por capilaridad con soluciones 0, 50 ó 100 mMol.m^-3 de NaCl. Luego de 15 días de aplicado el estrés se determinaron: actividad antioxidante, actividad secuestrante del DPPH (Asec), fenoles, ascorbato (Asc), carotenoides y flavonoides en parte aérea (PA) y en raíces, y clorofila en PA.

Resultados: La actividad antioxidante se incrementó significativamente en las plantas I, así como la ASec foliar para el nivel más severo de estrés. El contenido foliar de fenoles fue superior en las plantas I con respecto a los C. Las raíces de plantas I evidenciaron un mayor contenido de fenoles que las C en salinidad. Asimismo, en las plantas C el contenido de fenoles disminuyó en los niveles 50 y 100 mM de NaCl, con respecto a las plantas no estresadas. En las plantas I la salinidad no afectó el contenido de fenoles. Las plantas I evidenciaron un mayor contenido de clorofila que las C dentro de cada uno de los niveles de salinidad. La salinidad no afectó el contenido de clorofila de las plantas C, y el mismo se vio incrementado en el nivel 100 mM de salinidad para las plantas I. La concentración de flavonoides de las plantas I bajo estrés salino, fue superior que en las C. El contenido de carotenoides, comparando dentro de cada nivel de estrés salino, fue significativamente superior en las plantas I con respecto a las C. La inoculación incrementó los contenidos Asc con respecto a las plantas sin inocular. Mientras que en la parte aérea solo el nivel de mayor salinidad incrementó la concentración de Asc, en las raíces ambos niveles de estrés salino incrementaron la concentración de Asc.

Conclusiones: La inoculación de semillas de lechuga con *A. brasilense* Sp 245 incrementó los indicadores de las propiedades antioxidantes del vegetal, tales como la actividad antioxidante y la capacidad secuestrante del radical DPPH. Asimismo, la interacción con la bacteria indujo mayores concentraciones de distintos compuestos antioxidantes como fenoles, ascorbato, flavonoides, clorofilas y Asc.

SAMIGE - Microbiología ambiental y del suelo, Biodiversidad

VI 235

0710 - CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA BACTERIANA AISLADA DE LA RIZÓSFERA DE *HANDROANTHUS IMPETIGINOSUS* Y EVALUACIÓN DE SU CAPACIDAD RIZOGÉNICA IN VITRO.

YARTE, Mauro Enrique | LLORENTE, Berta Elizabet | LARRABURU, Ezequiel Enrique

LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES, UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

Introducción y Objetivos: *Handroanthus impetiginosus* "lapacho rosado" (*Bignoniaceae*) es una especie ampliamente distribuida en el noroeste argentino con relevancia ecológica, ornamental y forestal debido a sus características morfofisiológicas que incluyen la producción de metabolitos con diversos efectos terapeúticos. El lapacho rosado presenta inconvenientes para su conservación por la presión de tala que soporta y los problemas reproductivos típicos de la especie. Por otra parte, las plantas interaccionan con bacterias endófitas y rizosféricas que proveen mejoras en la disponibilidad y absorción de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, regulan distintas fitohormonas, como el ácido indolacético y pueden actuar como agentes de biocontrol. Por ello, el uso de herramientas como el cultivo in vitro y la biofertilización puede resultar de gran utilidad para la propagación de esta especie. El objetivo de este trabajo fue caracterizar una cepa aislada de la rizósfera de un ejemplar adulto de *H. impetiginosus* y evaluar, mediante estudios productivos y bioquímicos, su capacidad rizogénica en estacas in vitro de lapacho rosado.

Materiales y Métodos: La caracterización de la cepa consistió en la amplificación parcial y secuenciación del gen del ARNr 16S y posterior análisis empleando el algoritmo BLAST. Además, se evaluó crecimiento en medio sin nitrógeno (Nfb) y de solubilización de fosfatos inorgánicos en medio Pikovskaya con $Ca_3(PO_4)_2$ (5 g/L) y verde de bromocresol (PVK), producción de ácido indol acético (AIA) y compuestos análogos en medio Luria-Bertani (LB) suministrado con triptófano (2,5 mg/mL) mediante el reactivo de Salkowski. Los ensayos de enraizamiento in vitro se realizaron con brotes de lapacho derivados de Woody Plant Medium con 20 µM de bencilamino purina y 1 µM de ácido indolbutírico (AIB). La inducción de raíces se realizó en medio Murashige-Skoog con sales a mitad de concentración, vitaminas de Gamborg, 3% sacarosa y 0,7% agar (MR) suplementado con 30 µM AIB durante 3 días. Posteriormente, los brotes se transfirieron a MR libre de hormonas y se inoculó su base con 10^8 ufc de la cepa bacteriana. Los controles fueron plantas sin inocular. Se evaluaron: porcentajes de enraizamiento, parámetros biométricos, contenido de lignina en vástagos, proteínas solubles totales en vástagos y contenido de clorofila en extractos metanólicos de hoja. Los resultados fueron analizados utilizando ANOVA de un factor y comparación de proporciones pareadas con el software IBM SPSS 21.

Resultados: La cepa aislada fue determinada como *Stenotrophomonas* sp., produjo compuestos indólicos (40,63 µg/mL) y aumentó significativamente ($p<0,05$) el porcentaje de enraizamiento a partir del día 10 de cultivo. Además, mejoró significativamente el índice de parámetros radiculares respecto de los controles e incrementó la concentración de proteínas totales.

Conclusiones: En conclusión, el empleo de una cepa bacteriana rizosférica como *Stenotrophomonas* sp. mejoró el enraizamiento in vitro de lapacho rosado.

VI 236

0745 - CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA DE *PSEUDONOCARDIA* SP. MITI 22^T, ACTINOBACTERIA ENDOLIQUÉNICA

SOLANS, Mariana [1] | VOBIS, Gernot[1] | JOSE MARTIN, Scervino[1] | SCHUMANN, Peter[2] | SPRÖER, Cathrin[2] | MESSUTI, María Inés[1]

DEPTO. BOTÁNICA, CENTRO REGIONAL UNIVERSITARIO BARILOCHE-UNCOMAHUE-INIBIOMA, CONICET [1]; DSMZ – DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GMBH, INHOFFENSTRASSE 7B [2]

Introducción y Objetivos: Investigaciones recientes han demostrado que los líquenes (hongos liquenizados), los que constituyen una asociación simbiótica entre un hongo y un alga y/o cianobacteria, podrían ser una fuente de microorganismos biotecnológicamente interesantes, incluidas las actinobacterias. Estudios realizados sobre microecosistemas liquenizados en la región andina (Patagonia, Argentina), mostraron el aislamiento de veintitrés cepas de actinobacterias, pertenecientes a diversos géneros, provenientes del liquen *Pseudocyphellaria berberina* (Ascomycota). El objetivo de este trabajo fue complementar estos estudios mediante un enfoque polifásico (caracterización morfo-fisiológica, química y molecular) con el fin de describir una posible especie nueva representada por la cepa endoliquénica MITI 22^T.

Materiales y Métodos: Esta cepa fue cultivada en condiciones aeróbicas a temperatura ambiente en medios de cultivo para actinobacterias saprófitas. Una suspensión de esporas de MITI 22^T se conservó en glicerol (20%, v/v, -20°C) (BCRU, UNComahue), designada por DSMZ como DSM 46833^T. El ADN genómico total (DSM 46833^T) se extrajo utilizando el kit de aislamiento Ultraclean Microbial. Para comparar las secuencias incompletas del gen 16S ARNr de la cepa DSM 46833^T con las de las especies tipo (NCBI) se utilizó el análisis BLAST. Árboles filogenéticos fueron reconstruidos utilizando los métodos Neighbour-Joining (NJ), Máxima Verosimilitud (ML) y Máxima Parsimonia (MP), utilizando el programa MEGA 7.0. La preparación de la muestra para el análisis de proteína mediante espectrometría de masas de desorción/ionización con láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS) se realizó de acuerdo con el protocolo de extracción de etanol/ácido fórmico. A partir de hidrolizados de células completas (HCl 4N, 100°C, 16 h) se determinó el ácido diaminopimélico de la pared celular y los azúcares. Los ácidos grasos celulares se extrajeron de células cultivadas en agar soja (28°C, 22 días). Los lípidos polares se extrajeron y separaron mediante TLC bidimensional. Se estudiaron las características fenotípicas de la cepa DSM 46833^T en comparación con las cepas tipo de especies filogenéticas relacionadas.

Resultados: El aislamiento MITI 22^T (DSM 46833^T) creció con 1% (p/v) NaCl, pH 5.0-7.0 y 28°C (crecimiento óptimo). Un análisis comparativo de la secuencia del gen 16S ARNr mostró que la cepa DSM 46833^T formó un grupo distinto con *Pseudonocardia xinjiangensis* XJ-45^T (98.9%) y *Pseudonocardia saturnea* DSM 43195^T (98.3%). El ADN genómico (DSM 46833^T) tenía un valor de G+C (73.7% en moles). La similitud ADN-ADN entre DSM 46833^T y su vecino filogenético más cercano, *P. xinjiangensis* (menos del 17%), en combinación con la diferenciación de las cepas tipo relacionadas de *Pseudonocardia* por MALDI-TOF, sugiere que la cepa DSM 46833^T representaría una especie nueva incluida en el género *Pseudonocardia*.

Conclusiones: El enfoque polifásico del aislamiento fue consistente con la afiliación al mencionado género.

VI 237

0829 - IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE *TRICHODERMA* ENDÓFITAS DE YERBA MATE MEDIANTE TAXONOMÍA CLÁSICA Y MARCADORES MOLECULARES ITS1-5,8S-ITS2 Y EF-1ALFA

VERESCHUK, Manuela Lizz | LOPEZ, Ana Clara | ALVARENGA, Adriana Elizabet | VILLALBA, Laura Lidia | ZAPATA, Pedro Dario

LAB. BIOTECNOLOGIA MOLECULAR-INBIOMIS-FCEQYN-UNAM

Introducción y Objetivos: La provincia de Misiones (Argentina), cuenta con características y condiciones agroecológicas aptas para el cultivo y desarrollo de la yerba mate *Ilex paraguariensis* St. Hil. En Misiones, la yerba mate es desarrollada en monocultivos, y presenta una gran importancia económica. Con un área cultivada de 144.118,220 hectáreas, la provincia generó una producción de 127.595.538 kilogramos de hoja verde en el período enero-marzo de 2019, en comparación a los 22.115.999 kilogramos de hoja verde producidos en el mismo período, en la provincia de Corrientes. Sin embargo, es preocupante el incremento de yerbales degradados y de problemas fitosanitarios en Misiones. Se han realizado numerosos estudios para mejorar la calidad y fertilidad de los suelos de los yerbales; y se han encontrado hongos asociados a las plantas de yerba mate en estado nativo. Sin embargo, no se ha profundizado en los aspectos de la biología del suelo relacionados con el estudio de los microorganismos que ejercen efectos benéficos sobre las plantas. Los hongos del género *Trichoderma* presentan capacidades de biocontrol contra hongos fitopatógenos; además de aportar otros beneficios a las plantas, como la producción de metabolitos y enzimas, la liberación de nutrientes y factores de crecimiento. De modo que la aplicación directa de cepas autóctonas de *Trichoderma* sobre el sustrato de germinación constituye una alternativa prometedora para combatir los problemas existentes en los yerbales. Por todo lo anteriormente mencionado, se estableció como objetivo general de este trabajo identificar morfológica y molecularmente 14 aislados de *Trichoderma* endófitos de plantas de yerba mate de la Provincia de Misiones.

Materiales y Métodos: En primer lugar, se registraron las características macroscópicas de las colonias fúngicas. Luego se realizaron observaciones microscópicas mediante tinción simple con azul de lactofenol, y con la ayuda de claves taxonómicas, se observaron las características de las estructuras reproductivas. Para la identificación molecular, en primer lugar se realizó la extracción de ADN, el cual se cuantificó y se comprobó su pureza y calidad. La identificación molecular de los aislados se llevó a cabo utilizando dos marcadores moleculares: un fragmento de ~650 pares de bases, perteneciente a los espaciadores transcriptos intergénicos ITS1 e ITS2, junto con el gen 5,8S del ADNr (ITS1-5,8S-ITS2); y un fragmento de ~700 pb perteneciente a la secuencia parcial del factor de elongación (EF-1ALFA). Las secuencias obtenidas se compararon mediante un análisis de identidad/similitud, y se analizaron mediante el paquete informático Mega 7, utilizando el método de distancias de Neighbour joining junto al modelo de Jukes – Cantor, con un bootstrap de 1000 réplicas.

Resultados: De esta manera se lograron agrupar 14 aislados fúngicos endófitos de yerba mate dentro de cinco especies pertenecientes al género *Trichoderma: T. asperelloides, T. asperellum, T. hamatum, T. reesei*, y *T. strigosellum*.

Conclusiones: Mediante la caracterización macro y microscópica de los aislamientos y la utilización de marcadores moleculares se obtuvo una identificación más precisa de las cepas estudiadas.

VI 238

0948 - EFECTOS DE LA BIOINOCULACIÓN CON *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* EN LA GERMINACIÓN DE *EUSTOMA GRANDIFLORUM*EN SISTEMA FLOTANTE

MARTÍNEZ, Sergio Javier | CARLETTI, Susana | LARRABURU, Ezequiel Enrique | SANTOS, María Paula

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

Introducción y Objetivos: *Eustoma grandiflorum* "Lisianthus" es una variedad de corte con dificultades en su cultivo mediante sistemas tradicionales. La germinación y el crecimiento lento generan plantines heterogéneos con reducido desarrollo. La búsqueda de estrategias para acelerar el crecimiento de las plántulas mejoraría en gran medida la producción de esta especie y su promoción en el mercado local. El sistema de cultivo flotante ha permitido mejoras en el cultivo, obteniéndose plantines más grandes, de mejor calidad y mayor homogeneidad en menor tiempo. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar aspectos fisiológicos, morfológicos y anatómicos involucrados en la germinación de *E. grandiflorum* al inocular con *A. brasilense* Az39 en cultivo flotante.

Materiales y Métodos: La siembra de *E. grandiflorum* se realizó en plugs de poliestireno expandido rellenos con sustrato flotando en contenedores con agua destilada en cámara de cultivo con fotoperíodo de 16 h e intensidad lumínica 50 µM mˆ-2 sˆ-1 a temperatura ambiente. La inoculación se realizó con 10^5 y 10ˆ7 ufc

mLˆ-1 de Az39 sobre la superficie del sustrato al momento de la siembra o sobre la base de las plántulas a los 30 días post-siembra. Las muestras histológicas fueron fijadas, incluidas en parafina, cortadas con micrótomo rotatorio, coloreadas mediante safranina-fast-Green y montadas en bálsamo sintético. Cortes transversales de raíces y hojas fueron observados mediante microscopio óptico compuesto. Se determinaron parámetros de crecimiento, características anatómicas de raíces y hojas y el contenido de fósforo, proteínas, clorofila y la actividad de las enzimas catalasa (CAT), Polifenoloxidasa (PPO) y Peroxidasa (PO) según técnicas estandarizadas. Los experimentos fueron realizados por triplicado con diseños factoriales totalmente aleatorizados considerando como factores momento de Inoculación y concentración de inóculo.

Resultados: Se pudo observar que la bacterización durante la siembra generó porcentajes de germinación cercanos al 70%. La bacterización con 10ˆ7 ufc mLˆ-1 de Az39 a la siembra incrementó significativamente la longitud radical y el peso fresco de raíz, aunque no exhibió diferencias con el control en el número de hojas y la longitud del tallo y produjo una menor área foliar. El grosor del mesófilo y la epidermis resultaron incrementados hasta un 40%. El ancho de la corteza rizodérmica se incrementó hasta un 35% respecto al control en los tratamientos inoculados a la siembra. El diámetro del cilindro vascular se mostró aumentado en un 30% respecto al control en todos los tratamientos bacterizados. El contenido de clorofila se incrementó hasta en un 60% y las actividades enzimáticas de PPO, PO y CAT hasta 800-3200%.

Conclusiones: En conclusión, el mayor efecto de Az39 sobre el desarrollo de *E. grandiflorum* se observa al inocular en el momento de la siembra con 10ˆ7 ufc mLˆ-1. El incremento en parámetros biométricos, principalmente vinculadas al desarrollo radical, las características morfoanatómicas, el mayor contenido de clorofila, y la alta actividad CAT, PO y PPO permiten inferir que los plantines inoculados tendrían una mayor resistencia al trasplante.

SAMIGE - Microbiología Molecular

VI 239

0707 - REGULACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DEL PLÁSMIDO PLPU83A DE *RHIZOBIUM FAVELUKESII* LPU83 DESDE DIFERENTES ENTORNOS GENÉTICOS

CASTELLANI, Lucas [1] | LUCHETTI, Abril[1] | NILSSON, Juliet[1] | BROM, Susana[2] | PISTORIO, Mariano[1] | TORRES TEJERIZO, Gonzalo[1]

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP [1]; CENTRO DE CIENCIAS GENÓMICAS [2]

Introducción y Objetivos: La transferencia conjugativa (TC) de plásmidos es uno de los mecanismos de mayor contribución hacia la diversificación y adaptación bacteriana ya que permite el intercambio de información genética entre bacterias de diferentes géneros. Este proceso implica la síntesis de numerosas proteínas, por lo que resulta muy costoso a nivel energético. Debido a esto, la conjugación es un proceso altamente regulado. En algunos sistemas de rizobios, la regulación está mediada por Quorum Sensing (QS), en donde el regulador TraR activa la conjugación en presencia de una alta concentración de Acyl Homoserin Lactonas (AHLs). Las AHLs son sintetizadas por el gen TraI y se acumulan a una alta densidad poblacional. El plásmido pLPU83a, un plásmido accesorio de *Rhizobium favelukesii* LPU83, es transferido por conjugación a otras cepas, pero el mecanismo que regula su TC no es claro, ya que necesita TraR pero no AHLs (Castellani et al., 2019). Previamente, hemos identificado 2 genes involucrados en la regulación de la transferencia de pLPU83a, pLPU83a$_{0146}$ y pLPU83a$_{0148}$, aunque el rol que llevan a cabo es aún desconocido. Con el objetivo de dilucidar dicho rol, y sabiendo que la frecuencia de transferencia de pLPU83a varía según el entorno genómico del mismo, nos propusimos analizar la transferencia de pLPU83a y sus derivados mutantes en los genes de interés desde diferentes especies. Para determinar que entornos genómicos evaluar, se buscaron mediante herramientas bioinformáticas en qué otros microorganismos existen genes ortólogos a pLPU83a$_{0146}$ y pLPU83a$_{0148}$

Materiales y Métodos: Las conjugaciones fueron realizadas empleando la técnica de Simon (1989). Cada ensayo se realizó por triplicado. Las búsquedas bioinformáticas se realizaron mediante la herramienta BLAST-P tomando como valor de corte para definir homólogos un porcentaje de identidad mayor a 30%.

Resultados: Se evaluó la frecuencia de la TC de pLPU83a y sus versiones mutantes pLPU83a$_{0146}^{-}$ y pLPU83a$_{0148}^{-}$ desde *Rhizobium etli, Agrobacterium tumefaciens* y *Ensifer meliloti*. La TC de pLPU83a y los mutantes desde E. meliloti se mantiene a similares frecuencias que desde el entorno salvaje. Desde R. etli, la frecuencia es similar para todas las versiones del plásmido. Desde *A. tumefaciens*, pLPU83a y pLPU83a$_{0148}^{-}$ no mostraron TC. Llamativamente, pLPU83a$_{0146}^{-}$ evidenció un aumento en la TC.

Conclusiones: Los datos presentados en este trabajo confirman la interacción entre elementos regulatorios de un plásmido adquirido recientemente con elementos propios de la cepa aceptora, modificándose el comportamiento del mismo según los genes que lo rodeen. Se observó que dependiendo del entorno genético en el que se encuentre el plásmido, su comportamiento conjugativo puede ser similar al observado en su propio

entorno o verse afectado por algún componente propio o ausente en el nuevo entorno. Al mismo tiempo, se comprobó que los genes estudiados influyen en la transferencia desde ciertos entornos.

VI 240

0711 - CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN SISTEMA REPORTERO PARA ESTIMAR LA TRANSFERENCIA CONJUGATIVA DE *RHIZOBIUM FAVELUKESII* LPU83

LUCHETTI, Abril | CASTELLANI, Lucas | NILSSON, Juliet | PISTORIO, Mariano | TORRES TEJERIZO, Gonzalo

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos: Los rizobios son bacterias que interaccionan simbióticamente con las raíces de plantas leguminosas. Durante esta interacción, estas bacterias son capaces de transformar el nitrógeno (N) del aire en amonio. Los cultivos agronómicos dependen de los niveles de N en los suelos, por lo que se suele aprovechar la capacidad fijadora de N de los rizobios al utilizarlos como inoculantes para mejorar el rendimiento de dichos cultivos. Sin embargo, poco sabemos de cómo la liberación masiva de estas bacterias afecta la biodiversidad de los suelos. La transferencia horizontal de genes es una de las mayores fuerzas que contribuye a la diversificación y adaptación bacteriana, siendo la transferencia conjugativa (TC) uno de los factores más importantes. pLPU83a, un plásmido de *Rhizobium favelukesii* LPU83, es capaz de transferirse por conjugación, evidenciando un mecanismo de regulación de su TC que depende del regulador transcripcional TraR, pero no de Acil-homoserin lactonas. Esto hace a pLPU83a un buen candidato para el estudio de nuevos mecanismos de regulación de la TC. El objetivo de este trabajo es la construcción de un sistema reportero que nos permita evaluar la expresión de genes involucrados en la TC mediante medidas de fluorescencia y correlacionar dichos valores con la TC.

Materiales y Métodos: Las conjugaciones fueron realizadas empleando la técnica de Simon (1989). Se midió la fluorescencia de los cultivos de las cepas en diferentes etapas de crecimiento y se relacionó con la densidad óptica (DO) a 600 nm, las UFC y la frecuencia conjugativa.

Resultados: Se construyó un vector para realizar fusiones transcripcionales, en el cual puede clonarse cualquier promotor río arriba de la proteína verde fluorescente (GFP). En dicho vector se clonó el promotor del gen traR Y se transfirió a las cepas de R. favelukesii LPU83 silvestre y mutante en el gen pLPU83a$_{0146}$, el cual muestra un aumento en la frecuencia conjugativa. Mediante experimentos de transcriptómica, se observó que en dicho mutante la expresión de distintos genes involucrados en la TC se encontraba aumentada, siendo el gen del regulador traR el de mayor aumento. La relación entre fluorescencia y DO, en bacterias en fase exponencial, fue mayor en la cepa mutante que en la cepa silvestre, indicando una mayor expresión del gen *traR*. En condiciones de cultivo tardías, para la cepa salvaje, no se observó un incremento en la relación fluorescencia/densidad óptica, lo cual se corresponde con resultados reportados en nuestro grupo (Castellani et al., 2019).

Conclusiones: Hemos observado que los datos obtenidos por transcriptómica se corresponden con aquellos obtenidos por una metodología más simple. Esto nos permitirá evaluar la expresión de otros genes involucrados en la TC y poder medir así la frecuencia conjugativa sin tener que recurrir a la técnica clásica de conjugación de plaqueos con antibióticos y recuento de bacterias viables.

VI 241

0712 - RELEVANCIA DE LA HISTIDÍN QUINASA CHEA1 DE *HALOMONAS TITANICAE* KHS3 EN LA RESPUESTA QUIMIÓTACTICA GENERAL Y SU EFECTO EN LA FORMACIÓN DE BIOFILM

BALMACEDA, Rocio [1] | HERRERA SEITZ, María Karina[2] | STUDDERT, Claudia[1]

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA DEL LITORAL [1]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB CONICET UNMDP, FCEYN [2]

Introducción y Objetivos: En los últimos años, se ha planteado la importancia de la quimiotaxis en los procesos de biodegradación de contaminantes ambientales dado que ésta le permitiría a la bacteria encontrar sustratos con mayor eficiencia. *Halomonas titanicae* KHS3 es una bacteria halófila aislada del Puerto de Mar del Plata, capaz de crecer usando hidrocarburos poliaromáticos como única fuente de carbono y muestra quimiotaxis hacia estos compuestos. La secuenciación del genoma permitió la identificación del Cluster 1 relacionado a quimiotaxis, muy similar al cluster che de *E. coli.* El presente trabajo busca comprender la relevancia del Cluster 1 en el comportamiento quimiotáctico.

Materiales y Métodos: Se generó una mutante de deleción en el gen de la histidín quinasa *cheA1*. La construcción implicó el clonado de las regiones flanqueantes del gen a delecionar en un vector suicida, su incorporación en el locus correspondiente por recombinación homóloga y la posterior escisión de las secuencias

plasmídicas tras una segunda recombinación. La mutante obtenida fue confirmada por Reacción en Cadena de la Polimerasa, y por otra parte complementada con su propio gen faltante. El comportamiento quimiotáctico de la cepa mutante y salvaje se ensayó en placas de agar blando, y la movilidad fue observada en microscopio óptico de campo oscuro. El crecimiento de ambas cepas en medio líquido se determinó por densidad óptica. Adicionalmente, se realizaron ensayos de formación de biofilm por el método de coloración con cristal violeta, capacidad de autoagregación, macrocolonias en distintos medios y producción de exopolisacáridos por el método de rojo Congo.

Resultados: La deleción del gen *cheA1* destruyó por completo la respuesta quimiotáctica. La ausencia de anillos de quimiotaxis se debe sólo a deficiencias en quimiotaxis ya que ambas cepas presentaron movilidad similar. La expresión del propio gen *cheA1* no restauró el fenotipo de la mutante obtenida. Un análisis detallado de la misma mostró que el gen inmediatamente río abajo, que codifica para la proteína acopladora CheW1, tendría alteraciones en el sitio de unión a ribosoma. Un ensayo de Western Blot con anticuerpos anti-CheW confirmó una notable disminución en la expresión de CheW1. En un medio con fenantreno como única fuente de carbono y en ausencia de agitación la mutante en cheA1 mostró un crecimiento más lento respecto a la cepa salvaje, apoyando así el papel de la quimiotaxis en la eficiencia de la utilización del sustrato en esas condiciones. La mutante evidenció un incremento notable en su capacidad de formación de biofilm y autoagregación. Este aumento no puede explicarse por diferencias en la producción de exopolisacáridos. La morfología de macrocolonias de ambas cepas presenta diferencias que varían en diferentes medios.

Conclusiones: Los resultados evidencian el rol fundamental de la histidín quinasa CheA1 en la quimiotaxis de H. titanicae. Revelan un efecto inesperado en la formación de biofilm que podría resultar beneficioso para la degradación de contaminantes dado que facilitaría la interacción del microorganismo con las partículas de suelo y los contaminantes hidrófobos.

VI 242

0726 - OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES EN PROTEASAS ROMBOIDES EN LA HALOARQUEA *HALOFERAX VOLCANII*

GIMENEZ, Maria Ines | LATORRE, Lucas Leonel | PAGGI, Roberto Alejandro | DE CASTRO, Rosana Esther

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB CONICET UNMDP, FCEYN

Introducción y Objetivos: La mayoría de las proteasas poseen sus sitios activos expuestos al medio soluble (citoplasma extracelular o periplasma). Existe un grupo particular, las proteasas intramembrana, cuyos sitios activos están inmersos en la bicapa lipídica que rodea a las células y son capaces de llevar a cabo reacciones de hidrólisis en el entorno hidrofóbico de la membrana celular. Dentro de este grupo se encuentran las proteasas Romboides, proteínas conservadas en los tres Dominios de la vida y que se encuentran asociadas al desarrollo de patologías de importancia en humanos. En el genoma de la arquea halófila *Haloferax volcanii* existen dos genes homólogos de romboides, rhoI (HVO_1474) y rhoII (HVO_{0727}). En estudios previos construimos una mutante nula para rhoII (MIG1). Esta mutante presenta menor movilidad en placas de agar, una menor recuperación a la irradiación con luz UV y defectos en la glicosilación de la proteína constituyente de la pared celular (capa S). La mayoría de estos fenotipos si bien reproducibles son leves, sugiriendo que RhoI podría suplir (al menos parciamente) la función de RhoII. En este trabajo se presenta la construcción y caracterización parcial de una mutante condicional en *rhoI* y de una doble mutante (nula para *rhoII* y condicional para *rhoI*).

Materiales y Métodos: Las mutantes condicionales fueron obtenidas mediante la inserción de un promotor inducible por triptófano (*ptnA*) inmediatamente río arriba de la secuencia correspondiente al gen rhoI mediante doble recombinación homóloga (técnica de pop-in/pop-out).

Resultados: La correcta inserción de *ptnA* en el cromosoma fue verificada por PCR. La mutante simple presentó mayor tolerancia al estrés salino (exceso y defecto de NaCl) con respecto a la cepa parental. El análisis de la movilidad en placas de agar blando evidenció que la expresión de *rhoI* a partir del plásmido pTA963 en la cepa MIG1 es capaz de revertir dicho fenotipo. Por otra parte, la disminución en el nivel de rhoI afectó levemente la movilidad en la mutante condicional simple mientras que la mutante doble mostró un fenotipo aún más marcado que MIG1.

Conclusiones: Los resultados obtenidos aportan información acerca de los sistemas proteolíticos intramembrana de arqueas y sugieren el solapamiento funcional entre los homólogos de proteasas romboides en la regulación de la movilidad de *H. volcanii*.

VI 243

0735 - EXPRESIÓN DE UNA LACASA DE *PHEBIA BREVISPORA* EN *KLUYVEROMYCES LACTIS*

MOLINA, Melisa Antonella [1] | MILDE, Laura[2] | SGROPPO, Sonia Cecilia[3] | ZAPATA, Pedro Darío[4] | FONSECA, Maria Isabel[5]

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR - INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA" [1]; LABORATORIO 204. MÓDULO FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UNAM [2]; IQUIBA- NEA [3]; LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR - INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA" [4]; LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA" [5]

Introducción y Objetivos: *Phlebia brevispora* BAFC 633 es un hongo de pudrición blanca que produce una lacasa principal de 60 kDa y una de 75 kDa, que han sido purificadas y caracterizadas. Ésta enzima puede ser utilizada en procesos industriales, para lo que es necesario producirla en grandes cantidades y una manera de lograrlo es expresándola en la levadura GRAS *Kluyveromyces lactis*, que es de elevado interés biotecnológico debido a que tiene el potencial de expresar altos niveles y a gran escala proteínas recombinantes mediante rápido crecimiento de alta densidad celular y sin presentar background de expresión celular durante los pasos de clonación en *Escherichia coli*.

Materiales y Métodos: El presente trabajo tuvo como objetivo obtener lacasa recombinante a partir del ADNc aislado del hongo de pudrición blanca *P. brevispora* BAFC 633. Para ello, se realizó una amplificación por PCR utilizando como templado el gen previamente subclonado por el grupo y luego se digirió con las enzimas de restricción NotI y XhoI, al igual que el vector de expresión utilizado, pKLAC2. Estos productos fueron ligados y utilizados para realizar la transformación de las bacterias Escherichia coli utilizando ampicilina para la selección. Luego se llevó a cabo la extracción del ADN plasmidico mediante un procedimiento de lisis alcalina. La calidad de estos plásmidos se analizaron mediante electroforesis en geles horizontales de agarosa. Seguidamente se procedió a la linealización con la enzima Sac II, de los plásmidos que resultaron contener el gen de interés y se prosiguió a la clonación dentro de la levadura *K. lactis*. Los recombinantes se seleccionaron mediante la aparición de un halo verde en medio YCB suplementado con ABTS. En todas las etapas se verificó la identidad de la secuencia mediante secuenciación y herramientas bioinformáticas.

Resultados: De esta manera, los recombinantes que mostraron halos más intensos y grandes se seleccionaron para continuar posteriomente con el estudio exhaustivo en medio líquido. Finalmente, se verificó que el marco de lectura de la proteína de interés es correcto con 1500 pb.

Conclusiones: Estos resultados confirman que *K. lactis* es un hospedero apropiado para producir lacasa, sentando del mismo modo las bases para futuras investigaciones de la proteína, como así también para su aplicación en diferentes procesos.

VI 244

0737 - IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA FÚNGICA DEL GÉNERO *PENICILLIUM* NATIVA DE LA PROVINCIA DE MISIONES PRODUCTORA DE ACTIVIDAD LIPASA.

ORTELLADO, Laura Ester | LISOWIEC, Leandro Antonio | FONSECA, Maria Isabel | ZAPATA, Pedro Darío

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR – INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES – UNIVERSIDAD NACIONA

Introducción y Objetivos: Los daños que ocasionan los lípidos y carbohidratos generados por la industria alimentaria al medio ambiente son ampliamente conocidos. Las lipasas son enzimas capaces de modificar los aceites a través de la reacción de hidrólisis; rompiendo el enlace éster del triglicérido en presencia de agua produciendo glicerol y ácidos grasos. La aplicación de enzimas puede llegar a resolver los problemas en los procesos de tratamiento biológico de aguas residuales con un alto contenido de grasa y sólidos en suspensión. Los hongos presentan una amplia capacidad degradativa produciendo lipasas como parte de su metabolismo. Estudios previos de este grupo de trabajo han logrado evidenciar que la cepa LBM081 presenta un gran potencial lipolítico por lo cual su identificación a nivel específico se vuelve crucial, en vistas a potenciales aplicaciones en biotecnología. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue identificar la cepa fúngica del género *Penicillium* LBM081 nativa de la Provincia de Misiones empleando diferentes marcadores moleculares para ello.

Materiales y Métodos: La cepa que se utilizó de *Penicillium* sp. está disponible en el cepario del Laboratorio de Biotecnología Molecular (Instituto de Biotecnología Misiones). Para la identificación de la cepa seleccionada, se realizó una extracción de ADN a partir de micelio obtenido de cultivos de 7 días en medio líquido YES (Extracto de levadura 5 g/L; Glucosa 30 g/L) utilizando el protocolo propuesto por Fonseca et al (2013). La calidad del ADN se verificó mediante la visualización en geles de agarosa 1 % (p/v) teñidos con gel red. Para la identificación de la cepa se utilizaron los cebadores ITS1-ITS4, Bt2a-Bt2b y RPB2-5-RPB2-7R. Se realizó una PCR a partir de 60ng de ADN como molde. Una reacción sin el agregado de ADN se utilizó como control negativo. Los productos de las PCR se corrieron en un gel de agarosa 2% y se tiñó con gel red. Los productos se secuenciaron y se emplearon para realizar una búsqueda de secuencias homólogas del reino *Fungi* mediante el programa BLASTN. Se recuperaron las primeras 100 secuencias de especies tipo relacionadas y de ese conjunto de secuencias se eliminaron las secuencias redundantes. Para realizar el alineamiento se tomaron las primeras 43 secuencias y se llevó a cabo el alineamiento con el programa MUSCLE.

Resultados: El dendrograma concatenado se llevó a cabo mediante el programa MEGA 6.0 a partir de secuencias de ITS; BenA y RPB-2 utilizando el método de NEIGHBOR JOINING (NJ) con un boostrap de 1000 repeticiones. Se corroboró la pertenencia al género *Penicillium* de los aislamientos LBM081 al observar a nivel macro y microscópico la presencia de conidios, metúlas y fiálides. Las estructuras observadas micro y macroscópicas fueron las estructuras típicas del género *Penicillium*. Del análisis bioinformático de las secuencias obtenidas y la construcción de un árbol concatenado se obtuvo que el aislamiento LBM 081 se agrupó en un clado con *P. rubens* con un 96% de identidad.

Conclusiones: Los resultados indican que el aislamiento LBM 081 se corresponde con *P. rubens*.

VI 245

0742 - ESTUDIOS PROTEÓMICOS DEPENDIENTES DE GEL EN LEVADURAS RESISTENTES A CR(VI)

CASTRO, María Fernanda[1] | BONILLA, José Oscar[1] | LEHMANN, Karola[2] | NEUMANN, Boris[3] | **VILLEGAS, Liliana Beatriz** [1]

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. [1]; PROTEOME FACTORY AG [2]; PROTEOME FACTORY AG [3]

Introducción y Objetivos: *Wicherhamomyces anomalus* y *Candida glabrata*, aisladas a partir de sedimentos de Río San Luis, Argentina, mostraron capacidad de remover concentraciones entre 25 y 100 mg L^{-1} de Cr(VI) en medio líquido. En presencia de 50 mg L^{-1} de Cr(VI) W. anomalus removió un 80% del metal mientras que C. glabrata solo removió un 50% del mismo. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de 50 mg L^{-1} Cr(VI) en la expresión de proteínas celulares de ambas cepas, mediante técnicas proteómicas dependientes de gel.

Materiales y Métodos: *W. anomalus* y *C. glabrata* se cultivaron en medio EG (g L^{-1}: glucosa 10; extracto de levadura 1; K_2HPO_4 y KH_2PO_4 0,125; $MgSO_4$0,1), con y sin la adición de 50 mg L^{-1} de Cr(VI), durante 72 h y 200 rpm. La biomasa se obtuvo por centrifugación de 50 mL de cultivo a 4000 xg durante 20min a 4°C. Las biomasas se lavaron dos veces con PBS (mM: NaCl 124; NaH_2PO_4 10; KH_2PO_4 3) y se conservaron a -20°C. La ruptura mecánica de las células se realizó en mortero, con N_2 líquido. El polvo obtenido se recuperó con 5mL de Buffer Tris-Sacarosa y se centrifugó a 8.500 xg durante 20min a 4°C para eliminar los restos celulares. La concentración de proteínas se determinó con el método de Bradford, se liofilizaron y luego se reconstituyeron en 1 mL de Tritón X100 0,05% en PBS, 1 h a 4°C sin agitación. Las proteínas se resolvieron por SDS-PAGE en geles de poliacrilamida al 15%, a 80V durante 20 min y 120V por 2 h. El gel obtenido se tiñó con Coomassie R-250. Para la identificación de las proteínas, los carriles de cada una de las muestras fueron cortados en 7 segmentos y digeridos con Tripsina (Promega). Los péptidos resultantes se analizaron a través de nanoLC-ESI-MS/MS y para la identificación se utilizaron bases de datos de NCBInr y Bioinformatics Solutions Inc. (ON, Canadá).

Resultados: En presencia de Cr(VI) se identificaron 54 proteínas sobre-expresadas en *C. glabrata* y 179 en *W. anomalus*. Ambas cepas sobre-expresaron proteínas asociadas a: la síntesis de biomoléculas, metabolismo glicolítico, quinasas/fosfatasas que podrían ser claves en la activación o desactivación de vías de señalización intracelulares y proteínas involucradas en procesos de óxido-reducción. Por otro lado, en *W. anomalus* se identificaron además proteínas involucradas en la respuesta al estrés oxidativo, metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas de degradación que no se encontraron expresadas en *C. glabrata*.

Conclusiones: En ambas cepas, la presencia de Cr(VI) afectó la expresión de proteínas celulares de manera diferente, lo que podría corresponderse con diferencias en los mecanismos implicados en la respuesta frente a la presencia de este toxico. Estos resultados indican que W. anomalus expresa un mayor número de proteínas en presencia de Cr(VI), especialmente aquellas que les permite afrontar una situación de estrés, esto condice con la mayor capacidad de reducción del metal por *W. anomalus*.

VI 246

0746 - ¿DE DÓNDE OBTIENEN DIACILGLICEROL LAS MICOBACTERIAS? ESTUDIOS DE ENZIMAS CLAVES EN LA SÍNTESIS DE TRIACILGLICÉRIDOS

CROTTA ASIS, Agostina [1] | JACKSON, Mary[2] | GRAMAJO, Hugo[1] | GAGO, Gabriela[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR) [1]; COLORADO STATE UNIVERSITY [2]

Introducción y Objetivos: *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) es el agente causal de la enfermedad respiratoria denominada tuberculosis (TB). En el año 2017 esta bacteria fue responsable de más de 10 millones de casos nuevos de TB y 1.6 millones de muertes, posicionándose como la principal causa de muerte a nivel

global debido a un agente infeccioso. Durante las primeras semanas de infección, Mtb se replica activamente hasta que la respuesta del sistema inmune surte efecto y la proliferación del patógeno es controlada. Mtb ingresa así en un estado de dormancia en el cual puede persistir durante períodos extensos resultando en una infección latente. Se estima que 1.7 billones de personas se encuentran infectadas, constituyendo un gran reservorio del patógeno. Durante el período de latencia, Mtb reduce su velocidad de multiplicación y acumula inclusiones lipídicas intracitoplasmáticas las cuales consisten principalmente en triacilglicéridos (TAG). Ha sido propuesto que los TAG sirven como reserva de carbono permitiendo un rápido restablecimiento del metabolismo cuando se resucita su crecimiento y también que podrían ser importantes para la homeostasis redox cuando hay baja actividad respiratoria. Además, los TAG representan una respuesta activa en Mtb que promueve la tolerancia a antibióticos tanto in vivo como in vitro. Todos estos descubrimientos sugieren que el metabolismo de TAG es crucial para el éxito de Mtb para sobrevivir dentro del huésped y resistir las terapias de antibióticos comunes. Es por esto que, el objetivo de este proyecto es elucidar el rol del paso enzimático clave que gobierna la decisión de Mtb de sintetizar TAG y, por lo tanto, enlentecer su crecimiento e ingresar al estado de latencia.

Materiales y Métodos: Empleando como modelo de trabajo la bacteria *Mycobacterium smegmatis*, se construyeron cepas mutantes en dos putativas enzimas ácido fosfatídico fosfatasa (PAP). Las mismas catalizarían la síntesis de diacilglicerol (DAG), precursor directo de la síntesis TAG. Dichas cepas fueron crecidas bajo diferentes condiciones de estrés que simulan el estado de latencia. La consecuencia bioquímica-fisiológica de la mutación en la síntesis de novode lípidos se analizó mediante la incorporación de $14^{C\text{-acetato}}$ y posterior extracción y separación de lípidos por cromatografía en capa delgada. A su vez, se realizaron ensayos transcripcionales y ensayos de proteómica a fin de comprender la implicancia de estas enzimas en la síntesis de TAG.

Resultados: La sobreexpresión de putativas enzimas PAP produjeron un aumento en los niveles de DAG, sugiriendo que estas proteínas poseen actividad ácido fosfatídico fosfatasa. Las cepas mutantes fueron ensayadas en distintas condiciones de crecimiento, observándose una reducción en los niveles de TAG bajo estrés ácido. A su vez, se observaron cambios en el patrón de fosfolípidos. Los ensayos de proteómica sugieren que hay un reordenamiento metabólico a través del cual las cepas mutantes son capaces de obtener DAG a partir de vías metabólicas alternativas.

VI 247

0766 - IDENTIFICACIÓN MEDIANTE RNA-SEQ DE SRNAS NO CODIFICANTES EN DISTINTAS CONDICIONES DE AIREACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO EN *PSEUDOMONAS EXTREMAUSTRALIS*: ANÁLISIS DEL SRNA40

SOLAR VENERO, Esmeralda Clara [1] | TRIBELLI, Paula[2] | LOPEZ, Nancy[2]

IQUIBICEN [1]; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET [2]

Introducción y Objetivos: Los pequeños RNAs no codificantes (sRNA) desempeñan un papel clave como reguladores post-transcripcionales mediando en la estabilidad y eficiencia de traducción de los mRNA. La regulación de la expresión mediante sRNA en *Pseudomonas* es un área de investigación activa y de relevancia en especies ambientales y patógenas. *P. extremaustralis* es un microorganismo extremófilo por lo que su estudio puede aportar información sobre mecanismos de adaptabilidad a condiciones de estrés. Debido al impacto que tienen los agentes oxidantes, aún cuando la disponibilidad de oxígeno es baja, en este trabajo nos proponemos analizar la presencia y funcionalidad de sRNA regulatorios relacionados con microaerobiosis y estrés oxidativo en *P. extremaustralis*.

Materiales y Métodos: Se analizaron diversos sRNA con posible actividad regulatoria previamente identificados por experimentos de RNAseq en aerobiosis (A), microaerobiosis (M) y microaerobiosis expuestas a H_2O_2 (m-OS). Se comprobó el tamaño y perfil de transcripción de 8 sRNAs con expresión diferencial por Northern blot. Se seleccionó al sRNA40, cuya secuencia se encuentra conservada en otras especies de Pseudomonas, pero cuya función no ha sido descripta, para realizar experimentos de sobre-expresión seguidos de RNAseq. Su secuencia se clonó en un vector de expresión bajo el control de un promotor inducible (cepa *P. extremaustralis*/pBAD18-sRNA40). La expresión del sRNA a distintos tiempos de inducción se verificó por Northern blot, seleccionándose 10 min como tiempo experimental para el análisis transcriptómico de P. extremaustralis conteniendo pBAD18-sRNA40 y pBAD18 vacío. Se utilizó el programa Rockhopper para determinar los genes con expresión diferencial. Además, se empleó el programa IntaRNA para realizar la predicción del interactoma del sRNA40 y modelar la interacción del sRNA con los genes que exhibieron expresión diferencial luego de la sobre-expresión.

Resultados: La predicción *in silico* del interactoma del sRNA40 permitió identificar 100 posibles blancos de regulación. En relación a esto se pudo observar que la mayor parte de las interacciones involucran la región correspondiente a los primeros 120 bp del sRNA, siendo las bases más relevantes aquellas cercanas a la posición 90. El análisis del perfil transcriptómico mostró expresión diferencial de 19 genes ($P<0.05$, $Q<0.05$), de los cuales 14 se encontraron sobre-expresados y 5 reprimidos. Cabe destacar que 8 de estos transcriptos corresponden a componentes de los sistemas de secreción II y III (T2SS y T3SS). Entre ellos, xcpU, xcpX y xcpZ, pertenecientes al sistema general de secreción. El modelado reveló que la interacción del sRNA40 con los genes obtenidos se ve energéticamente favorecida.

Conclusiones: En conjunto, los resultados obtenidos permitieron identificar sRNAs que mostraron expresión diferencial en microaerobiosis y estrés oxidativo cuya función todavía debe ser dilucidada. Se observó que el sRNA40 actúa en respuesta a estrés oxidativo, probablemente afectando la regulación de los mecanismos de secreción.

VI 248

0789 - ANALYSIS OF THE COMPLETE GENOME SEQUENCE OF OENOLOGICAL *LACTOBACILLUS PLANTARUM* UNQLP 11 ISOLATED FROM PATAGONIAN RED WINE

IGLESIAS, Gabriel | BRIZUELA, Natalia | TYMCZYSZYN, Emma Elizabeth | VALDES LA HENS, Danay | HOLLMANN, Axel | SEMORILE, Liliana | **BRAVO FERRADA, Barbara**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES

Introduction and objectives: Malolactic fermentation (MLF) is the process responsible for the conversion of L-malic acid to L-lactic acid and CO2, which reduces total acidity, improves biological stability and modifies the aroma profile of the wine. MLF takes place during or after alcoholic fermentation and is carried out by one or more species of lactic acid bacteria (LAB) present in grapes and cellars, or inoculated as malolactic starters. The UNQLp 11 genome is the first complete sequence of a *Lb. plantarum* isolated from red wines from the southern region of the American Continent. The available genomic information provides us with new opportunities to study the flavor forming potential of this LAB and other important technological properties. We aim to illustrate the natural genomic architecture and the metabolic consequences of UNQLp 11 that is essential to evaluate the potential of this strain as a malolactic starter.

Materials and methods: To obtain DNA, 1 mg/ml of lysozyme with 1% sodium dodecyl sulfate was used. Proteins were removed with 0.1 g/ml of proteinase K, followed by phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1) extraction. A total of 16 µg of high-quality genomic DNA was required for library preparation and sequencing. A whole-genome shotgun library was constructed using a 20-kb SMRTbell version 1.0 template prep kit, followed by single-molecule real-time (SMRT) sequencing conducted on an RS II (Pacific Biosciences) sequencer (Macrogen). A total of 1,268,593,327 reads (383,24 -fold coverage and a polymerase read N50 size of 21,044 bp), with an average length of 14,480 bp and an estimated accuracy of 85.5 %, were used as input for de novo assembly with the Canu package. The Canu output consisted of a single circular contig without gaps. Prediction and annotation of coding sequences were conducted with Gene MarkS. Genome annotation was done using the NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline. Protein function prediction were done using Blast2GO 5.1.1

Results: UNQLp 11 genome analysis showed the ability for the production of enzymatic activities and metabolites of oenological interest. The importance of our in silico analysis is in guiding future genomics sequencing and experimentation and there by validating our predictions.

Conclusions: The chromosomal sequence of the *Lb plantarum* UNQLp 11 reveals numerous responsible genes for production of metabolites important in the formation of aromas in the production of wine. In addition, the analysis indicates that this strain has the possible to be associated with a wide variety of environments, being able to use different substrates for its growth. That is why, UNQLp11 has the opportunity of being a player as a starter of the MLF. Although the presence of genes does not guarantee its expression during a vinification process, the genome analyses screening allows knowing which strains have the chance to synthesizing enzymes related to aroma production in wine. Finally, the complete genome sequence of *Lb. plantarum* UNQLp11 may improve our understanding on the FML effects of and extend its potential applications in food fermentation.

VI 249

0819 - IMPORTANCIA DE LA FORMACIÓN DE BIOFILM DE *PSEUDOMONAS RESINOVORANS* EN EL PROCESO DE OXIDACIÓN DE MANGANESO(II).

CIANCIO CASALINI, Lucila | PIAZZA, Ainelén | OTTADO, Jorgelina | GOTTIG, Natalia

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos: Las bacterias oxidantes de Manganeso (MOB, *Manganese-oxidizing bacteria*) representan una herramienta biotecnológica aplicable a procesos de biorremediación. La MOB denominada *Pseudomonas resinovorans* MOB-449 fue aislada por nuestro grupo de trabajo, a partir de muestras ambientales, con el fin de implementar su uso en sistemas de tratamiento biológico de remoción de Mn. Para mejorar la aplicación de esta bacteria en estos procesos, se requiere de un conocimiento básico previo acerca del mecanismo molecular y de las condiciones en las cuales la bacteria oxida el metal. Por este motivo, el objetivo de este trabajo consistió en analizar la oxidación de Mn (II) de MOB-449 en distintas condiciones de crecimiento y en identificar los procesos biológicos involucrados en dicho proceso.

Materiales y Métodos: En primer lugar, se evaluó como afecta la condición de crecimiento de la bacteria en la formación de óxidos de Mn. Para ello, la misma fue crecida en agitación y en forma estática, a 18°C y 30°C, en medio de cultivo Lept, conteniendo Mn. A distintos tiempos, se cuantificaron los óxidos formados y, además, se realizaron ensayos de actividad oxidante de Mn *in vitro*. Debido a que el crecimiento en forma estática favoreció el proceso de oxidación, se realizaron ensayos de biofilm con la bacteria MOB-449 que expresa la proteína GFP, para analizar si ambos procesos se encuentran asociados. La bacteria se creció de forma estática en microplacas, a 18°C y 30°C, en presencia o ausencia de Mn y la formación del biofilm fue visualizada diariamente mediante técnicas de microscopía confocal. Un ensayo similar se realizó con el propósito de evaluar si el proceso de formación de biofilm es afectado por la presencia de otros metales, que pueden coexistir en la naturaleza junto al Mn. Finalmente, se realizó un estudio de proteómica comparativa para identificar posibles proteínas asociadas a la oxidación de Mn. Para ello, se seleccionó la condición de crecimiento que favoreció la mayor producción de óxidos (determinada anteriormente) y se creció a la bacteria en presencia o ausencia de Mn, durante 3 días, a 18°C y 30°C. A ese tiempo la bacteria solo oxida a 18°C, por lo que el crecimiento a 30°C se considera como una condición control, donde la oxidación no se lleva a cabo.

Resultados: Los resultados demostraron que el crecimiento en agitación disminuye la actividad oxidante de Mn tanto *in vivo* cómo *in vitro*. A su vez, en la condición de crecimiento estático se observó que a 18°C la oxidación de Mn es más rápida y más eficiente que a 30°C. Respecto a los ensayos de biofilm, fue mayor cuando la bacteria crece a 18°C. A partir del análisis proteómico se detectó un aumento en la abundancia de oxidorreductasas, citocromos y de proteínas que conforman el sistema de movilidad por twitching, que podrían participar en la oxidación de Mn.

Conclusiones: La oxidación de Mn ocurre cuando la bacteria crece de forma estática, en forma de biofilm. Estudios futuros serán necesarios para una mayor comprensión del proceso.

VI 250

0832 - *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* MUTATOR ISOLATES FROM CF PATIENTS SHOW AMPC ß-LACTAMASE VARIANTS WITH HIGH HYDROLYTIC EFFICIENCIES THAT CONFER COMPETITIVE ADVANTAGE TO CEPHALOSPORINS AND MONOBACTAMS

COLQUE, Claudia Antonella [1] | TOMATIS, Pablo Emiliano[2] | ALBARRACÍN ORIO, Andrea[3] | HEDEMANN, Gabriela[1] | HICKMAN, Rachel A.[4] | JOHANSEN, Helle Krogh[5] | MOLIN, Soeren[6] | VILA, Alejandro J.[7] | SMANIA, Andrea M.[1]

CIQUIBIC-CONICET, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS [1]; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR [2]; CIQUIBIC-CONICET, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS / IRNASUS-CONICET [3]; DEPARTMENT OF CLINICAL MICROBIOLOGY, RIGSHOSPITALET [4]; DEPARTMENT OF CLINICAL MICROBIOLOGY, RIGSHOSPITALET [5]; NOVO NORDISK FOUNDATION CENTRE FOR BIOSUSTAINABILITY, TECHNICAL UNIVERSITY OF DENMARK [6]; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR [7]

Introduction and objectives: *Pseudomonas aeruginosa* has evolved a myriad of intrinsic and acquired resistance mechanisms to counter nearly all antibiotics used for its treatment. Common mechanisms of resistance include the selection of mutations in chromosomal genes leading to the inactivation of the carbapenem porin OprD, the upregulation of efflux pumps and the hyperproduction of AmpC mediated by mutation-dependent mechanisms. We previously showed that in patients treated with high and long-dose ß-lactam therapy, *P. aeruginosa* is able to easily adapt and that accumulation of mutations within *ampC* gene is strongly selected during long-term evolution in chronic CF infection. Moreover, we showed that hypermutability favors the emergence of *ampC* variants consisting of several mutations differentially combined to lead for diversified alleles. When expressed in an AmpC-deficient PAO1 strain and compared to PDC-3, some of these *ampC* variants were associated with high resistance towards cephalosporins and monobactams including the new combination ceftolozane-tazobactam. Here, we further assessed whether the combinations of mutations affect adaptation and persistence of *P. aeruginosa* to a given antibiotic and ß-lactamase hydrolytic activity.

Materials and methods: We performed competition experiments between lacZ+/lacZ- PAO1 strains expressing each of the *ampC* variants by growing each co-culture in the presence and absence of ceftazidime and aztreonam. Afterward, mature most competitive AmpC variants were expressed and purified, and their ß-lactam hydrolysis capability against ceftazidime, piperacillin, and imipenem was determined by enzyme-kinetic measurements.

Results: Our results show that adaptation to ceftazidime antibiotic is based on a three-mutations A89V, V213A and Q120K core, being the latter residues localized either into or spatially close to the omega-loop, respectively, suggesting possible interactions. Addition of N321S to this mutations core did not affect competitiveness in ceftazidime, unlike the addition of the H189Y mutation, which concurrently with a decrease in ceftazidime, improved competitiveness in aztreonam. We found out that AmpC variants were 10- to 30-fold more active against ceftazidime than PDC-3 whereas imipenem hydrolysis was not affected. On the other hand, AmpC variants were 10- to 100- fold less active against piperacillin, suggesting that the evolved resistance

against ceftazidime simultaneously led to an increased susceptibility to piperacillin probably by collateral sensitivity processes.

Conclusions: Our results demonstrate how the interplay of AmpC spontaneous mutations plays a pivotal role in the development of genetic ß-lactam antibiotic resistance and the pathogenic fitness of *P. aeruginosa*.

VI 251

0841 - PCR-L-CYS: UNA PCR-MULTIPLEX INNOVADORA PARA DETECTAR LA PRODUCCIÓN DE SULFURO DE HIDRÓGENO EN *CAMPYLOBACTER FETUS* Y CONTRIBUIR CON SU IDENTIFICACIÓN

FARACE, Pablo Daniel [1] | MORSELLA, Claudia[2] | CRAVERO, Silvio[1] | SIOYA, Bernardo[1] | AMADIO, Ariel[3] | PAOLICCHI, Fernando[2] | GIOFFRÉ, Andrea[1]

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA [1]; DEP. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, LAB. DE BACTERIOLOGÍA, INTA EEA BALCARCE [2]; ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA, INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) [3]

Introducción y Objetivos: *Campylobacter fetus* es un patógeno que produce trastornos intestinales e infecciones sistémicas severas en humanos. En animales, está asociado a infertilidad y abortos en vacunos, enfermedad conocida como Campilobacteriosis Genital Bovina (CGB). Las diferencias fenotípicas entre la subespecie *Campylobacter fetus fetus* (Cff) y *Campylobacter fetus venerealis* (Cfv) permiten el diagnóstico diferencial de la CGB. La producción de sulfuro de hidrógeno es un rasgo exclusivo de Cff y *Campylobacter fetus venerealis* biovar *intermedius* (Cfvi). Dicho gas es producido a partir de L-cisteína y puede ser analizado bioquímicamente. La presencia de una deleción en un transportador de L-cisteína interrumpe la producción de este gas en las cepas de Cfv, como se describió anteriormente. En el presente trabajo, reportamos una nueva PCR-multiplex dirigida al operón que codifica al transportador de L-cisteína con el objetivo de contribuir con una herramienta molecular para la diferenciación de las subespecies de *Campylobacter fetus*.

Materiales y Métodos: Se diseñaron oligonucleótidos para la PCR-multiplex utilizando el programa Unipro UGENE 1.31 (http://ugene.net/), con el fin de evaluar la presencia o ausencia de la deleción y producir un patrón diferencial en el producto de amplificación. Se estudiaron 34 aislamientos obtenidos a partir de muestras clínicas bovinas. Todos los aislamientos se cultivaron en placas de agar Skirrow bajo condiciones de microaerofilia durante 72 h a 37°C y fue evaluada la producción de sulfuro de hidrógeno bioquímicamente. Posteriormente se realizó un estudio in silico empleando el programa PrimerMap (https://www.bioinformatics.org/sms2/primer_map.html) para el análisis de 35 secuencias de genomas completos de acceso público (NCBI) y 3 secuencias de cepas locales obtenidas por NGS en nuestro laboratorio, de esta manera se incrementó la diversidad de cepas estudiadas.

Resultados: Se obtuvo un producto de 714 pb para las subespecies Cff y Cfvi, mientras que para Cfv se obtuvo un producto de 310 pb, correspondiendo este último caso a la deleción parcial del operón. Se obtuvo una correlación perfecta entre la prueba bioquímica y la prueba desarrollada (kappa=1). Asimismo, se obtuvo la misma correlación cuando se analizó in silico la performance de la PCR-multiplex.

Conclusiones: En este trabajo demostramos que la PCR-L-Cys tiene la potencialidad de reemplazar a la prueba bioquímica de producción de sulfuro de hidrógeno actualmente empleada, constituyendo una herramienta valiosa para el diagnóstico diferencial de *Campylobacter fetus*.

VI 252

0878 - ESTUDIO DEL ROL DE LA PROTEINA TIPO PII EN MICOBACTERIAS

ENSINCK, Delfina [1] | GAGO, Gabriela[1] | GERHARDT, Edilusa[2] | HUERGO, Luciano[2] | GRAMAJO, Hugo[1] | DIACOVICH, Lautaro[1]

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR [1]; INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO-UFPR [2]

Introducción y Objetivos: En bacterias, las proteínas PII integran señales fisiológicas y regulan diversos blancos mediante interacciones proteína-proteína. Su acción moduladora es consecuencia de su capacidad de sensar tres metabolitos intracelulares claves: ATP, ADP, y alfa-cetoglutarato. Además, estas proteínas pueden sufrir modificaciones covalentes reversibles, como uridilación. En diversos microorganismos se ha determinado que las proteínas PII intervienen en el metabolismo y asimilación del nitrógeno, regulando la actividad enzimática de la glutamato sintetasa, la respuesta transcripcional de genes a través de la interacción con factores de transcripción, y el influjo de amonio a través de canales transmembrana. Recientemente, se ha observado que proteínas PII son capaces también de regular el metabolismo del carbono al interaccionar con el dominio transportador de carboxi-biotina (BCCP) de las enzimas acetil-CoA carboxilasas (ACC). Las ACC

catalizan un paso esencial en la síntesis de los ácidos grasos, carboxilando acetil-CoA, produciendo el precursor malonil-CoA. Mycobacterium tuberculosis, el agente etiológico de la tuberculosis, y otras micobacterias codifican para una única proteína tipo PII, cuyo rol aún no se ha identificado. Estas bacterias además poseen varios complejos acil-CoA carboxilasas (ACCasa) con especificidad de sustrato relajada. Estas enzimas proveen los sustratos para la biosíntesis de ácidos grasos, ácidos micólicos y ácidos grasos multimetil-ramificados, que forman su inusual membrana externa. Por esta razón, nos proponemos como objetivo estudiar la interacción entre la proteína PII y las ACCasas de M. tuberculosis y analizar su impacto sobre la fisiología de la bacteria. Además, nos planteamos continuar con el estudio de esta proteína evaluando su posible rol en la asimilación de nitrógeno y en la regulación transcripcional.

Materiales y Métodos: La interacción de la proteína PII con las ACCasas micobacterianas se comprobó mediante ensayos de co-purificación a partir de extractos de Micobacterium smegmatis que sobreexpresan la proteína PII de M. tuberculosis. El efecto sobre la actividad ACCasa fue evaluado mediante ensayos de actividad ACCasa en presencia de PII, siguiendo la incorporación de bicarbonato marcado radiactivamente. El ensayo se realizó tanto para un complejo ACCasa purificado in vitro, como a partir de extractos proteicos de M. SMEGMATIS en diferentes condiciones de amonio o mediante la sobre-expresión de la proteína PII.

Resultados: En este contexto, demostramos que existe una interacción entre la proteína PII y la subunidad AccA3 que contiene el dominio BCCP de la ACCasa de M. tuberculosis. Sin embargo, su interacción parecería no afectar los niveles de actividad ACCasa, usando tanto enzimas purificadas, como extractos proteicos en las diferentes condiciones.

Conclusiones: De acuerdo con estos resultados, proponemos que la proteína PII no estaría involucrada en la modulación del metabolismo del carbono mediante su interacción con las ACCasas en micobacterias.

VI 253

0883 - MLRB, UN REGULADOR TRANSCRIPCIONAL ESPECÍFICO DE SALMONELLA INVOLUCRADO EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS Y EN LA VIRULENCIA

ECHARREN, María Laura | SONCINI, Fernando

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR

Introducción y Objetivos: Salmonella es agente causal de gastroenteritis y fiebre entérica, constituyendo un problema grave para la salud pública. Un aspecto clave del ciclo de vida de Salmonella que contribuye a su alta prevalencia es su capacidad para formar biopelículas, comunidades inmersas en una matriz extracelular que les permite adherirse entre sí y a diversas superficies. En Salmonella, la matriz extracelular está compuesta principalmente de curli y celulosa cuya síntesis se controla principalmente a nivel transcripcional mediante la expresión de su regulador maestro, CsgD. La expresión de este activador transcripcional está a su vez controlada por varios factores de transcripción que integran diferentes señales ambientales. Mediante análisis in silico y estudios in vitro identificamos un factor de transcripción específico de Salmonella, MlrB, que pertenece a la familia MerR de reguladores de respuesta en S.Typhimurium y presenta homología con MlrA, principal activador de CsgD. Previamente, demostramos el rol de este regulador en la formación de biopelículas, en la activación del regulón Csg y por lo tanto la transición al estilo de vida sésil. Debido a que el gen que codifica para MlrB está ubicado en la "Isla de Patogenicidad de Salmonella 2" (SPI-2), que codifica diversos factores de virulencia necesarios para la supervivencia intracelular de este patógeno, nos planteamos como objetivo evaluar el rol de MlrB en el proceso infeccioso de Salmonella.

Materiales y Métodos: Se evaluó la expresión de MlrB en condiciones de cultivo que inducen la SPI-2 utilizando fusiones transcripcionales con el reportero lacZ y fusiones traduccionales a 3xFLAG. A su vez, evaluamos el rol de mlrB en la sobrevida de Salmonella en macrófagos RAW 264.7 mediante ensayos de protección de la gentamicina. Además, se utilizó un modelo murino para analizar el efecto de MlrB en el desarrollo de infección sistémica.

Resultados: Determinamos que la expresión de MlrB es máxima en condiciones relevantes para la infección, en concordancia con la regulación observada para los miembros de la SPI-2. Además, establecimos que MlrB es requerida para la sobrevida de Salmonella dentro de macrófagos. Finalmente, los resultados obtenidos en el modelo en ratones sugieren la participación de este regulador en la infección sistémica por Salmonella.

Conclusiones: Nuestros resultados nos permiten postular a mlrB como un miembro de la SPI-2 que codifica para un factor transcripcional capaz de percibir el entorno intracelular y requerido para sobrevida intracelular de Salmonella. En conjunto, estos hallazgos permiten situar a MlrB como un enlace prometedor entre la modulación de la virulencia y la producción de biopelículas.

VI 254

0915 - BIO MINERALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN *GEOBACTER SULFURREDUCENS PARA LA OBTENCIÓN DE CITOCROMOS TIPO-C*

INCHAURRONDO, Joaquin | PEDETTA, Andrea | BUSALMEN, Juan Pablo | **ORDÓÑEZ, Maria Victoria**

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES

Introducción y Objetivos: Geobacter sulfurreducens es una bacteria electro-activa capaz de reducir un gran número de aceptores finales de electrones insolubles. Esta habilidad se debe en gran medida a la presencia en dicha bacteria anaerobia de una gran variedad de citocromos tipo-c (c-Cyts). Muchos ellos se localizan en la membrana externa (Omc c-Cyts), permitiendo que la transferencia electrónica atraviese los límites de la célula. Dentro de los posibles aceptores finales se encuentran los oxihidróxidos de hierro, algunos de los cuales se reducen produciendo nanopartículas de magnetita (Fe+2Fe2+3O4), un mineral con propiedades magnéticas. Si bien se ha comprobado previamente la síntesis de estas nanopartículas en cultivo de G. sulfurreducens, a la fecha no se conoce su mecanismo de síntesis. El objetivo de este trabajo es explorar la posibilidad de utilizar materiales magnéticos producto del metabolismo de G. sulfurreducens como fuente de Omc c-Cyts, para su posterior purificación y estudio de sus características bioquímicas y electroquímicas, así como también evaluar los mecanismos de síntesis de los nanomateriales magnéticos obtenidos.

Materiales y Métodos: Para ello, cultivos de *G. sulfurreducens* crecidos durante 15 días en Acetato como dador y Fumarato como aceptor, son enfrentados a un Oxihidróxido de hierro (III) e incubados en anaerobiosis, para producir magnetita. Luego de 15 días de incubación se comprobó la presencia de magnetismo en el precipitado en los cultivos y se procedió a la purificación de este material por medio de imanes de noedimio, y un protocolo secuencial de centrifugación y sonicación. El material colectado se analizó por Difracción de Rayos X (DRX), microscopía Raman y se observó en Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) para determinar su naturaleza y composición química, además de explorar por la presencia de Omc c-Cyts.

Resultados: Análisis de las micrografías de TEM obtenidas a partir de las diferentes fracciones purificadas de cultivos incubados con concentraciones crecientes de precursores de hierro sugieren la presencia de nanopartículas de magnetita, las cuales muestran una morfología que concuerda con la reportada previamente. Por otra parte, el análisis de los espectros Raman y patrones de DRX corroboran la presencia de picos característicos para magnetita en combinación con otros cristales de óxidos de hierro como goetita. Ensayos de electroforesis en geles de poliacrilamida semidesnaturalizantes y análisis mediante espectrofotometría serán realizados para verificar la potencial interacción de las nanopartículas bio-mineralizadas con los citocromos tipo-c característicos de G. sulfurreducens.

Conclusiones: Aunque preliminares, los resultados obtenidos permitieron profundizar en la caracterización de las nanoparticulas de magnetita biomineralizadas por cultivos de Geobacter. Asimismo, a partir del trabajo realizado se logro llevar a cabo la purificación de dichas nanoparticulas a partir de muestras mas complejas, aprovechando las propiedades magneticas del material bajo estudio. Finalmente, si bien los espectros Raman obtenidos parecen sugerir la presencia en las fracciones de nanoparticulas aisladas de citocromos tipo-c, futuros ensayos bioquímicos y electroquímicos permitirán corroborar dicha hipótesis.

VI 255

0917 - EFECTO DE LA SOBREEXPRESIÓN DE LOS GENES MSN2 Y MSN4 EN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

MAZA, Debora Daniela [1] | GARCÍA RÍOS, Estefanía[2] | VIÑARTA, Silvana Carolina[3] | GUILLAMÓN NAVARRO, José Manuel[2] | **NAVARRO, Alvaro Martín** [3] | AYBAR, Manuel Aybar[1]

INSTITUTO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS (INSIBIO), CONICET-UNT. [1]; INSTITUTO DE AGROQUÍMICA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (IATA), CSIC. [2]; PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET [3]

Introducción y Objetivos: Estudios previos demostraron que los factores de transcripción MSN2 y MSN4 en condiciones de estrés forman dímeros e ingresan al núcleo donde se unen al elemento respuesta al estrés STREs (por sus siglas en inglés, Stress-Response Elements), el cual se encuentra en la región promotora de numerosos genes relacionados a la tolerancia a diferentes tipos de estrés (estrés oxidativo, osmótico, térmico, falta de nutrientes, etc.). Cuando MSN2 y MSN4 forman un dímero en el citoplasma, se transloca al núcleo donde se une al elemento STREs activando la transcripción de estos genes como mecanismo de la respuesta general al estrés. Esta respuesta le otorga a las levaduras la capacidad de tolerar diferentes condiciones de estrés. En condiciones normales MSN2 y MSN4, se encuentran en el citoplasma inactivos, no son necesarios para crecer ni participan en la viabilidad celular.

Materiales y Métodos: Se prepararon cepas de *S. cerevisiae* (BY4741) que sobreexpresan MSN2 y/o MSN4 bajo su mismo promotor y terminador en plásmidos episomales (alto número de copia). La selección de las transformantes se realizó en medio SC con la correspondiente auxotrofía. Luego se procedió a estudiar el efecto de la sobreexpresión sobre el crecimiento. Las levaduras se cultivaron a 28°C, 220 rpm en medio SC con

diferentes agentes estresantes, sorbitol (0,5, 1,0 M), NaCl y KCl (0,5; 1,0 y 1,5 M), H_2O_2 (3 y 5 mM). También se evaluó el efecto de la baja temperatura (12°C) durante 120 h sobre el crecimiento.

Resultados: La sobreexpresión individual de MSN2 o MSN4 tuvieron un efecto negativo sobre el crecimiento celular, en todas las condiciones evaluadas. Mientras que las levaduras que sobreexpresan MSN2 y MSN4 en forma conjunta presentaron crecimiento en medios de cultivos con 5 mM de H_2O_2 comparado con los controles, las cuales fueron incapaces de crecer en estas condiciones. A concentraciones más bajas de H_2O_2 (3mM) se observó un mayor crecimiento de las cepas transformadas comparado con el control. También se observó un efecto positivo sobre el crecimiento cuando S. cereviasie creció a 12 °C. La sobreexpresión de ambos genes se corroboró por PCR cuantitativa.

Conclusiones: Los resultados sugieren que MSN2 y MSN4 en forma conjunta, resultan clave para la respuesta al estrés oxidativo y a baja temperatura. EL nivel de expresión de ambos genes juega un rol fundamental para generar este efecto positivo, debido a que cuando se sobreexpresan en forma individual tienen un efecto negativo en todas las condiciones evaluadas.

VI 256

0925 - PRESENCIA DE ELEMENTOS INTEGRATIVOS Y CONJUGATIVOS ICE SXT Y ICESH95 EN ENTEROBACTERIAS

COLLIVADINO, Leandro | RAMOS PASSARELLO, Germán | TADDEO, Federico | PARMECIANO DI NOTO, Gisela | QUIROGA, Cecilia

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (UBA-CONICET)

Introducción y Objetivos: Los elementos integrativos y conjugativos (ICE) son plataformas genéticas capaces de transferirse a distintos organismos. Existen diversas familias de ICEs siendo SXT/R391 una de las más estudiadas y distribuidas en el género Vibrio y en Enterobacterias. Estos elementos poseen varias regiones conservadas o core, tales como los genes de integración int y escisión xis, los genes de transferencia tra y los genes de regulación set. Sus regiones variables pueden codificar mecanismos de defensa, genes de resistencia a antibióticos y a metales pesados. Nuestro grupo caracterizó un nuevo ICE en la cepa clínica Shewanella sp. Sh95, denominado ICESh95, que codifica para un sistema de restricción y modificación, un operón de resistencia a metales pesados y un integrón de clase 4. El objetivo del presente trabajo fue analizar comparativamente el contenido genético entre los ICE SXT y ICESh95, y determinar su presencia en aislamientos clínicos de Enterobacterias.

Materiales y Métodos: La búsqueda y análisis de las estructuras genéticas de los ICEs se hizo por blastn y blastp usando las secuencias completas de cada plataforma o las secuencias de las proteínas Int y Xis contra las bases de datos de Genbank. La construcción de árboles filogenéticos de las integrasas y escionasas de los ICEs se llevó a cabo usando el modelo de máxima verosimilitud con 1000 bootstraps con el programa MEGA V7. El análisis comparativo de las plataformas de los ICEs se hizo con el programa MAUVE. La búsqueda de los ICE SXT y ICESh95 en aislamientos clínicos de 20 Enterobacterias (6 Providencia spp., 10 Klebsiella spp., y 4 Proteus spp.) se realizó mediante PCR con primers específicos para los genes int_SXT, int_Sh95, oriT y setR.

Resultados: La búsqueda de ICEs reflejó la presencia de un único homólogo al elemento híbrido ICESh95 en los genomas de Enterobacterias, que correspondió al genoma de Providencia rettgeri $PR_1$62 ya que su módulo xis/int era similar al de ICESh95. El ICE de $PR_1$62 poseía además regiones variables distintas a las descritas para otras plataformas. Entre ellas se encontró un sistema de defensa tipo BREX-1. Además, se detectaron 3 ICEs del tipo SXT en los genomas de P. rettgeri 729/12, H1736 y NCTC7476. El análisis de Int y Xis de los distintos ICEs mostró que son cercanas a proteínas presentes en Vibrio cholerae. Por otro lado, la búsqueda de ICEs en aislamientos clínicos de Enterobacterias también resultó en la presencia de ambos elementos (ICE SXT y ICESh95) en el género Providencia.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que los aislamientos de Enterobacterias pueden adquirir tanto ICE SXT como ICESh95. El análisis de las estructuras genéticas de estos elementos pone en evidencia su versatilidad y plasticidad. La similitud entre el ICESh95 y el ICE $PR_1$62 refleja su constante evolución y la posibilidad de incorporar genes de resistencia a antibióticos contribuyendo con esta problemática mundial.

VI 257

0970 - DESARROLLO DE UN SISTEMA POINT OF CARE PARA LA DETECCIÓN DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

BERGIER, Julián [1] | MARCHETTA, Nicolas[2] | BORIO, Cristina[1] | CORTHEY, Alberto[2] | GHIRINGHELLI, Pablo Daniel[1] | BILEN, Marcos[1]

LIGBCM - UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES [1]; LEBYM - LABORATORIOS DE ESTUDIOS BIOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS [2]

Introducción y Objetivos: Actualmente existe un gran desarrollo de sistemas de detección molecular rápidos y de bajo costo denominados (POC). Una etapa importante en el proceso de detección de ácidos nucleicos es la amplificación de los mismos. Las metodologías más utilizadas estan asociadas a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Sin embargo, existen tecnologías de amplificación isotérmicas más eficientes y económicos. En nuestro laboratorio desarrollamos una tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos acoplada a sondas fluorescentes, que le confieren alta especificidad y sensibilidad al sistema. Esta tecnología fue acoplada a un dispositivo POC capaz de leer y almacenar los resultados. El objetivo del presente trabajo fue utilizar esta plataforma para el desarrollo de un sistema POC de diagnóstico molecular de Chlamydia trachomatis y evaluar su desempeño.

Materiales y Métodos: A partir del análisis bioinformático de genomas de, se diseñaron oligonucleótidos y sondas específicas de los genotipos más representativos de Argentina (D, E, F, G, H, I, J, K). Se analizaron los parámetros de reacción para estudiar la eficiencia del sistema. Luego de obtener las condiciones óptimas, se analizó la sensibilidad y especificidad del sistema utilizando muestras con ADN sintético de Ct. Los resultados fueron analizados utilizando un equipo de real time PCR y electroforesis en gel de agarosa. Por otro lado, las muestras fueron evaluadas en un dispositivo POC, construido, basado en la detección de una reacción colorimétrica acoplada a la amplificación del ADN. Por último se analizaron muestras de pacientes, previamente evaluadas por real time PCR y microscopía.

Resultados: Se optimizaron todos los componentes de reacción analizando parámetros cinéticos (Ct y amplitud de la señal) en un equipo de real time PCR. Una vez optimizada la reacción, se evaluó la sensibilidad del sistema utilizando una curva patrón de ADN sintético. Se obtuvo una sensibilidad del orden 10-100 moléculas. Para evaluar la especificidad del sistema se utilizó ADN genómico de bacterias relacionadas. Se obtuvo 100 % de especificidad respecto a las muestras ensayadas. Por último, se evaluaron muestras clínicas previamente analizadas mediante real time PCR y microscopía. Se obtuvo 100 % de sensibilidad y 100% de especificidad respecto a la metodología de referencia.

Conclusiones: Teniendo en cuenta las ventajas que presentan las metodologías de amplificación isotérmica, se desarrolló una nueva metodología que incorpora sondas fluorescentes que confieren mayor sensibilidad y especificidad al sistema. Esta tecnología fue utilizada para el desarrollo de un sistema de diagnóstico molecular para Ct. La validación del sistema demostró parámetros de sensibilidad y especificidad comparables a la metodología de referencia. Los resultados fueron obtenidos en un rango de 30-45 minutos. Actualmente se continúa trabajando en el análisis de un mayor número de muestras, para aumentar la confiabilidad y robustez del sistema.

VI 258

0345 - IDENTIFICACION DE SITIOS DE RECONOCIMIENTO DE RECOMBINASAS SITIO-ESPECIFICA XERC/D EN EL PLASMIDOMA DE *ACINETOBACTER BAUMANNII*: ROLES EN LA PLASTICIDAD PLASMIDICA Y DISEMINACIÓN DE RESISTENCIA A CARBAPENEMES

CAMERANESI, María Marcela | REPIZO, Guillermo Daniel | LIMANSKY, Adriana | VIALE, Alejandro Miguel

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR)

Introducción y Objetivos: El sistema Xer de recombinación sitio-específica (RSE) bacteriano permite la resolución de dímeros del cromosoma formados durante la replicación, y es cooptado por diversos elementos genéticos móviles (EGM) para su estabilidad y diseminación. Módulos portadores de genes *bla*OXA portando resistencia a carbapenemes (CpmR) flanqueados por sitios de reconocimiento de recombinasas XerC/XerD son frecuentes en plásmidos del patógeno nosocomial *Acinetobacter baumannii* (Aba). Nosotros reportamos recientemente que algunos de esos sitios en plásmidos de la cepa clínica Ab242 aislada en hospitales de Rosario forman pares activos mediando RSE [1]. Aquí, nosotros caracterizamos mediante métodos bioinformáticos los distintos sitios XerC/D presentes en el plasmidoma de Aba con énfasis en aquellos portadores de *bla*OXA, a fin de evaluar su rol en la adquisición y diseminación de CpmR en la población clínica de Aba.

Materiales y Métodos: Construimos una base de datos de 215 plásmidos de Aba incluyendo a la cepa clínica local Ab825. En los mismos buscamos sitios XerC/D empleando una secuencia patrón de 28 nucleótidos reportada previamente en la cepa Ab242 [1] utilizando Fuzznuc. A partir de este análisis inferimos un consenso mediante WebLogo.

Resultados: Este análisis mostró 376 sitios XerC/D en 112 plásmidos, el 52% de los analizados. La frecuencia de sitios por plásmido varió entre 1 y 13, teniendo el 41% de los mismos 3 sitios por molécula. El logotipo obtenido evidenció prevalencia de ciertos nucleótidos en posiciones determinadas, permitiendo proponer una secuencia XerC/D consenso para el plasmidoma de Aba. Los plásmidos con sitios XerC/D poseen tamaños menores a 50 kpb y no son conjugativos, en contraste con aquellos carentes de sitios que oscilan entre 50 y 150 kpb y presentan una maquinaria conjugativa. Esto sugiere que los últimos median la diseminación inter-

celular de genes de resistencia mediante conjugación, mientras que en los primeros este proceso dependería del intercambio intra-celular previo mediado por RSE de plataformas portadoras de genes de resistencia flanqueadas por sitios XerC/D. En apoyo a esta hipótesis detectamos, mediante experimentos de transformación de cepas modelo de *Acinetobacter*, co-integrados entre diferentes plásmidos presentes en cepas clínicas de Aba. Dichos co-integrados involucraron nuevos pares de sitios XerC/D, generando plataformas previamente no observadas portadoras de genes *bla*OXA de resistencia a Cpm.

Conclusiones: Nuestro análisis bioinformático detectó asimismo que plásmidos menores a 50 kpb, incluidos los de Ab825 portadores de CpmR, contienen múltiples sitios XerC/D flanqueando módulos funcionales así como asociados a entornos genéticos específicos. La detección de un par XerC/D activo en plásmidos recombinantes portadores de *bla*OXA sugiere así que dichos sitios participan en RSE contribuyendo a la evolución plasmídica y a la diseminación de la resistencia antimicrobiana. [1]Cameranesi et al., 2018. Front. Microbiol. 9:66 (https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00066)

SAMIGE - Educación en Microbiología

VI 259

0544 - ESTRATEGIA DE ENSEÑANZA DE MICROBIOLOGIA EN UN PROFESORADO EN QUÍMICA

PASTOR, Maria Alejandra | VARELA, Patricia

IBT FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ

Introducción y Objetivos: La cultura de la enseñanza y del aprendizaje, obliga al docente a realizar profundas transformaciones en el campo de los objetivos, contenidos, métodos, modos de evaluación y recursos tecnológicos empleados. Todo esto condiciona un proceso dentro del cual, tanto la enseñanza como el aprendizaje como subsistemas, se basan en una educación desarrolladora, que implica una comunicación y actividades intencionales, cuyo accionar didáctico genera estrategias de aprendizajes para el desarrollo de una personalidad integral y autodeterminada del educando, en los marcos de la universidad como institución social transmisora de la cultura. La Asignatura Microbiología General forma parte del plan de estudio del Profesorado en Química (UNSJ); se encuadra en el segundo semestre de 4° y último año de la carrera. Considerando que es una ciencia de gran interés y actualidad, y la importancia que tiene para los futuros docentes, nos propusimos competencias tales como estimular el deseo de aprender; incentivar en los alumnos el deseo de investigar, etc. Se usó recursos didácticos entre los cuales estuvo el desarrollo de un trabajo monográfico para el logro de las competencias propuestas, además de las específicas para la experiencia, tales como: aprender la estructuración de un trabajo científico, aprender a ordenar y priorizar contenidos en una exposición, favorecer la transversalidad de cátedras relacionadas, comprensión lectora y producción de textos, resolución de problemas, análisis crítico, mejora en la comunicación oral y escrita y capacidad de innovar. El presente trabajo se llevó a cabo durante los ciclos lectivos 2016 a 2018 inclusive.

Materiales y Métodos: Cada alumno trabajó individualmente, con los docentes como guía y con la aplicación de la siguiente metodología: 1-Selección del tema. 2-Investigación bibliográfica; 3-Elaboración del trabajo; 4-Presentación; 5- Evaluación de la experiencia (mediante encuesta de 31 preguntas con valoración numérica, donde 4 es completamente satisfecho y 0 completamente insatisfecho).

Resultados: Resultados: 82.85% de respuestas con valoración 4; 14.85% con 3; 1.25% con 2; 0.38% con 1 y con 0.

Conclusiones: Con los valores obtenidos en esta evaluación se evidencia tanto el logro de las competencias y objetivos propuestos, como una amplia conformidad con lo logrado individualmente y como grupo, demostrando la efectividad de la experiencia en la profundización de cada tema en particular, de la asignatura en general y un alto grado de motivación, siendo esto último una estrategia de aprendizaje en sí misma, contribuyendo todo esto a la formación integral del futuro docente.

INDICE DE AUTORES

ABARCA, Camila	MI 238, MI 239
ABEIJÓN MUKDSI, María Claudia	JU 200
ABEL, Sofia	JU 019
ABEYÁ, María Mercedes	MI 152
ABLIN, Marcela	MI 095
ABRAHAM, Analía Graciela	VI 172
ABRANTES, Ruben Antonio	Oral JU 5, MI 089, VI 089
ABUD, Cristina Elizabeth	JU 056, JU 058
ACARDI, Hugo Horacio	MI 044, MI 082
ACEVEDO, María Elina	VI 163
ACOSTA, Gabriela Alejandra	VI 165, VI 166
ACOSTA, Ramiro	JU 009
ACOSTA, Viviana	VI 156
ACUÑA, Patricia	MI 178
ACUÑA, Vanina	JU 174, JU 175
ACUÑA OJEDA, Maria Florencia	MI 100
ADURIZ, Matias	JU 157
AFELTRA, Javier	MI 085
AFFRANCHINO, José Luis	MI 149
AGARAS, Betina	MI 204, JU 235, SAMIGE JU 7
AGORIO, Iris	MI 089, VI 103
AGOSTO, Maria Emilia	MI 102
AGOTE, Felicitas	VI 164
AGRIMBAU, Jorge	JU 019
AGUERRE, Lorena	VI 047
AGUIAR, Constanza	MI 157
AGUILA, Marina Soledad	MI 116
AGUILAR, Maria Tatiana	VI 049
AGUILAR VASQUEZ, Noemi Nancy	MI 105
AGUILERA, Juan	MI 212, VI 211
AGUIRRE, Fabián	JU 066
AGUIRRE, Gabriela Edith	MI 126
AGUIRRE, Miguel Angel	JU 156
AGUSTÍN, María Del Rosario	VI 193
ALARCÓN, Laura	MI 015
ALBA SOTO, Catalina	JU 148
ALBANESE, Adriana	VI 066
ALBANESI, Daniela	VI 227
ALBARRACÍN, Virginia Helena	JU 259
ALBARRACÍN ORIO, Andrea	MI 241, VI 250
ALBERTO, María Rosa	VI 202
ALBICORO, Francisco Javier	MI 250
ALBO, Graciela	VI 027
ALBORÉS, Silvana	VI 224, VI 226

ALBORNOZ, Ezequiel	Oral MI 3, MI 015, MI 017, MI 025, JU 002, JU 007, JU 008, JU 013
ALCAIN, Andrea	JU 051, JU 252, VI 062
ALCHÉ, Laura Edith	JU 152, VI 015
ALDERETE, Jose Alejandro	VI 213
ALE, Ana Carolina	JU 056, JU 058
ALE, Elisa	VI 167, JU 220
ALEGRE, Belén A.	MI 092, JU 090
ALFANO, Orlando	MI 168
ALFARO, Esteban	MI 100
ALFARO, Laura	VI 203
ALFONSO, Claudia	VI 019
ALFONSO, Victoria	Oral JU 1
ALIPPI, Adriana Mónica	MI 104
ALLENDE, Denis Jorge	MI 063
ALLENDEZ, Gastón	MI 226
ALLIEVI, Mariana	SAMIGE VI 3, VI 168
ALMARÁ, Adriana	JU 047, JU 053
ALMASQUE, Facundo J.	SAMIGE MI 1
ALMEIDA, María Laura	JU 192
ALMONTE, Maribel	VI 160
ALMUZARA, Marisa	MI 061, VI 060, VI 071
ALONSO, Alicia María	MI 155, JU 156
ALONSO, Daniel Fernando	VI 028
ALONSO, Daniel Oscar	JU 159
ALONSO, Fernando Martín	VI 125
ALONSO, Ines	MI 162
ALONSO, Leonardo	SAMIGE JU 6
ALONSO, Matias	JU 084
ALONSO, Miriam	VI 056
ALTABE, Silvia	VI 225
ALTABERT, Nancy Rosana	VI 161
ALTAMIRANO, Agustina	VI 076
ALTAMIRANO, Delicia	VI 158
ALTHABEGOITI, María Julia	MI 259, JU 239, JU 240
ALTINA, Melisa	SAMIGE MI 3
ALUFFI, Melisa	VI 111, VI 094
ALVARENGA, Adriana Elizabet	MI 205, MI 116, JU 222, VI 237, VI 213
ÁLVAREZ, Anahí Soledad	MI 236
ALVAREZ, Daniela Soledad	SAMIGE VI 7, SAMIGE VI 8
ALVAREZ, Hector	SAMIGE VI 2
ALVAREZ, Héctor Manuel	MI 114, MI 078
ALVAREZ, Romina Soledad	MI 233
ALVAREZ, Sebastian	VI 006
ALVAREZ, Vera	VI 206
ÁLVAREZ, Verónica Elizabeth	JU 030, VI 033, VI 014
ALVAREZ LOPEZ, María Cristina	VI 157

ALZAGA, Ernesto Emiliano	VI 106
ALZOGARAY, Gabriela	JU 161
ALZOGARAY, Vanina	JU 155
AMABLE, Valeria Ines	MI 007, MI 129
AMADIO, Ariel	MI 254, MI 256, VI 147, VI 251
AMALFI, Sabrina	Oral JU 1, VI 148
AMARAL, María Marta	MI 233
AMBROSIO, Rafael	VI 216
AMEIGEIRAS, Beatriz	MI 162
AMENTA, Melina	VI 112
AMIGOT, Susana	MI 045, MI 082, MI 083, JU 081
ANCHART, Eduardo	MI 044, MI 045, MI 082
ANDERSEN, Sofia Itati	MI 252
ANDRADA, Lidia Estefania	JU 200, VI 179
ANDREOLI, Yolanda	JU 187
ANDREOTTI, Carolina	MI 123
ANDRES, Patricia Olga	JU 008
ANGEL VILLEGAS, Natalia	MI 120
ANGELINA, Emilio Luis	MI 140
ANGELONI, Agustina	MI 033
ANGIOLELLA, Letizia	VI 086
ANSALDI, Nazarena	MI 203
ANSELMINO, Maria Cecilia	VI 157
ANSELMO, Ricardo José	JU 166
ANTEZANA, Pablo Edmundo	JU 109
ANTICH RIZZA, Maria Constanza	VI 095
APELLA, Maria Cristina	JU 184
APROINM	JU 067
AQUILI, Virginia	MI 046, JU 174, JU 175, JU 003, JU 034
ARABOLAZA, Ana	MI 078, SAMIGE VI 9
ARANDA, Claudio	JU 052
ARBIZA, Juan	MI 160
ARCE, Lorena Paola	VI 164
ARCHILLA, Mariela Valeria	MI 096, JU 091
ARECHAVALA, Alicia	MI 085
AREDES FERNÁNDEZ, Pedro	VI 218
ARGAÑARAZ, Federico	VI 169
ARGAÑARAZ, Pablo	JU 032
ARGAÑARAZ MARTINEZ, Fernando Eloy	JU 140, JU 184, JU 201
ARGARAÑA, María Fernanda	MI 053, VI 049, VI 057, VI 098, VI 132
ARGÜELLES, Claudia	JU 075, JU 076, JU 078
ARGÜELLES, Marcelo	MI 146, MI 157
ARGÜELLO, Andrea	VI 138
ARIAS, Alejandra	VI 068
ARIAS, Barbara	VI 027, VI 034
ARIAS, Maite Belén	VI 065

ARMELLA SIERRA, Alicia	JU 155
ARMIENTO, María Nieves	VI 151
ARMITANO, Rita	VI 055, VI 085
ARNAIZ, María Rosa	MI 077
ARNAU, Gonzalo	VI 202
ARNEODO, Joel	JU 124
ARO, Carolina	JU 035
ARREGUI, Matias Ezequiel	VI 036
ARRIBILLAGA, Sofia	JU 075, JU 078
ARRUEBARRENA DI PALMA, Andrés	VI 216
ARRUVITO, Lourdes	MI 161
ARZAMENDIA, Lucia	MI 077
ASATO, Soledad	MI 058
ASCUE, Julian	MI 138
ASENSIO, Claudia Mariana	MI 206, VI 026
ASKENAZI, María Viviana	JU 079
ASPITIA, Carolina	MI 133
ASSA, Jose	VI 095
ASSAD, Sabrina	VI 231
ASURMENDI, Paula	JU 138, VI 187
ATZORI, Carlos	JU 076
AUDISIO, Carina	MI 091, MI 180, JU 001, VI 004, VI 221
AVARO, Martin	Oral JU 4, VI 156
AVENDAÑO, María Belén	JU 122
AVILA, Teresa	MI 105
AVILA HAEL, Graciela Natividad	VI 170, VI 171
AVILÉS, María Victoria	JU 065
AVILÉS, Natalia	MI 052
AYA CASTAÑEDA, María Del Rosario	JU 028
AYALA GOMEZ, Rosalía	VI 013
AYALA SCHIMPF, Alan Rolando	JU 210
AYBAR, Manuel Aybar	VI 255
AYBAR, Mariana	VI 130
AYOUB, Ibrahim	MI 206, VI 026
AZCURRA, Ana Isabel	VI 077, VI 088
AZULA, Natalia	VI 054, VI 059
BABOT, Jaime Daniel	JU 140, JU 184, JU 201
BÄCKER, Claudia	MI 073, MI 076
BADER, Araceli	JU 217
BAIGORÍ, Mario	JU 104, JU 106, JU 219
BAILLO, Ayelen Antonella	JU 167
BALBI, Eugenio E.	MI 188
BALBOA, Luciana	VI 081
BALCAZA, José Alexander	MI 007
BALCAZAR, Wilvis	MI 193
BALDINI, Monica	JU 168

BALDONI, Gabriela	VI 073
BALL, María Mercedes	MI 193
BALLERINI, Viviana Alicia	MI 021, MI 044, MI 045,MI 062
BALMACEDA, Rocio	VI 241
BANCHIO, Erika	MI 235, MI 261
BAQUÉ, Jonathan	JU 123
BARAN, Ezequiel	MI 064
BARANDIARAN, Soledad	VI 084
BARAVALLE, Celina	MI 123, MI 128, VI 134
BARBANO, Pablo	VI 029
BARBERIA ROQUE, Leyanet	MI 008, MI 009, VI 201
BARBERIS, Carla	VI 111, VI 094, VI 113
BARBERIS, Claudia	MI 061, JU 029, VI 030, VI 075
BARBERIS, Florencia	JU 198
BARBERIS, Lucila	JU 138, VI 187
BARBIERI, Elena	MI 200
BARBIERI, Pablo	VI 118
BARBINI, Luciana	MI 148
BARCAROLO, María Victoria	JU 245
BARCUDI, Danilo	Oral MI 6
BARDOSSY, Eugenia	VI 073
BAREMBAUM, Silvina Ruth	VI 077, VI 088
BARENGO, Marcela Paola	VI 106
BARIDON, María de Los Ángeles	MI 064
BAROLIN, Johann	JU 066
BARÓN, Pedro	MI 200
BARONI, Maria Rosa	JU 035
BARONI, Sabina	MI 179
BARONI, Verónica	VI 188
BARQUEZ, Raquel	VI 163
BARRAZA, Yenny	VI 117
BARRERA, Marcelo Daniel	MI 239
BARRERA, Viviana	JU 103
BARRIENTOS AVILA, Lia Marisel	JU 259
BARRIL, Patricia	JU 169, JU 170
BARRIONUEVO, Cristian	Oral VI 5
BARRIOS, Cristian	MI 021, MI 055
BARRIOS, Hebe	MI 132, MI 134, JU 166, VI 116
BARRIOS, Melina E	MI 002, JU 111, VI 126
BARRIOS, Rubén	MI 068, JU 042
BARRÓN PASTOR, Heli Jaime	Oral MI 1
BARTOLI, Claudia	JU 050, VI 070
BARUA, Ramona Celeste	MI 116
BARUCH, Daniel	JU 135
BARZAN YABUNAKA, Kelly Cristina	VI 104
BASCHKIER, Ariela	Oral MI 4, MI 068, JU 033, VI 066

BASILETTI, Jorge	MI 160, JU 161, VI 160
BASSO, Carla	JU 171
BASTONE, Laura	MI 036
BATALLA, Marcelo	JU 144, JU 145
BATALLE, Mariano	MI 132
BATISTA-GARCÍA, Ramón	JU 124
BATISTELA, Virginia A.	JU 220
BATTAGLIA, Marina	SAMIGE JU 4, VI 216
BATTINI, Leandro	JU 152
BAUMAN, Carlos	VI 169
BAUMEISTER, Elsa	Oral JU 4, VI 156
BAYAS-MOREJÓN, Favian	MI 022, MI 165
BAZTAN, Maite	VI 119
BECCARIA, Camila	MI 123, MI 128, VI 134
BECERRA, María Cecilia	MI 067, VI 013, MI 120
BECKER, Anke	JU 241
BEDMAR, Eulogio J.	JU 110
BEDÓ, Soma	MI 191
BEDOGNI, Giselle Rocio	MI 201
BEDOYA, Cesar	MI 164
BEHRENDS - KRAEMER, Filipe	SAMIGE MI 3
BELAUS, Andrea	MI 121
BELFIORE, Carolina	JU 234
BELLETTI, Ayelen	JU 041
BELLO, Natalia	MI 057
BELLOMO, Carla	JU 159
BELLOQUI, Gabriel	JU 017
BELLOTTI, Natalia	MI 008, MI 009, MI 113, VI 201
BENCHETRIT, Guillermo	Oral MI 5
BENEDETTI, Estefania	Oral JU 4, VI 156
BENEGAS, Liliana	MI 045
BENENCIA, María Eugenia	MI 064
BENENCIO, Paula	VI 149
BENEVENTO FERNANDEZ, Andres	Oral MI 8
BENGOA, Ana Agustina	VI 172
BENIMELI, Claudia Susana	JU 109
BENINTENDE, Graciela	MI 097, JU 102
BENITEZ, Florencia	MI 054
BENITEZ, Silvana Florencia	VI 165, VI 166
BENÍTEZ ÁLVAREZ, Leicy Elizabeth	JU 079
BENITO, Nicolás	VI 111, VI 094
BENSO, Miriam	VI 156
BENTANCOR, Adriana	VI 141
BENTENCOURT, Emilse	VI 217
BENZZO, Maria Teresita	MI 119, JU 120
BERCOVICH, Bárbara	JU 099

BERENGENO, Andrea Lorena	VI 028
BERET, Victoria	JU 213
BERGALLO, Carlos	MI 052, MI 058
BERGAMINI, Carina	MI 223, JU 213
BERGER, Alejandra	VI 046
BERGER, María Alejandra	JU 005
BERGIER, Julián	VI 257
BERGOTTINI, Veronica	MI 095
BERINI, Carolina	VI 149
BERISVIL, Ayelén	JU 132, VI 137
BERLI, Claudio La	VI 099
BERLI, Rocio	VI 098
BERMEJO, Joaquin	VI 025, VI 076
BERNÁ, Luisa	VI 082
BERNABEU, Pamela	JU 203
BERNAL, Alan Mauro	MI 032, JU 230, VI 228
BERNAL, Anahi Romina	MI 230, VI 223
BERNAL REY, Daissy	SAMIGE MI 1
BERNALDO DE QUIROS, Marcia Alejandra	VI 069
BERNARDI, German	JU 050
BERNASCONI, Carla Beatriz	VI 049
BERNSTEIN, Judith	MI 041
BERON, Corina	SAMIGE JU 4, MI 210
BERRETTA, Marcelo	MI 097, MI 166
BERRIO MEDINA, Indira	JU 083
BERRUEZO, Fabiana	JU 039
BERTANI, Milena Sabrina	VI 179, JU 140
BERTILLER, Mónica B.	VI 129
BERTINI, Elisa Violeta	Oral VI 8, VI 128
BERTOLINI, Pamela	VI 009, VI 085
BERTONA, Eugenia	Oral MI 5
BESUSCHIO, Susana Alicia	JU 142
BETANCOURT GORDILLO, Diana Marcela	JU 027
BETLER, Caren	MI 044
BETTIOL, Marisa	VI 097
BEVACUA, Dario	VI 076
BEZUS, Brenda	MI 110, MI 213, MI 214, JU 108
BIALER, Magalí	JU 253
BIANCHI, Dario A.	VI 219
BIANCHINOTTI, María Virginia	VI 120
BIASOLI, Marisa	MI 083, JU 081
BICH, Gustavo Angel	JU 098, VI 106
BIGI, Fabiana	JU 073, JU 077
BIGLIONE, Mirna	VI 149
BILEN, Marcos	VI 257
BINETTI, Ana	JU 220, VI 167, VI 196

BISCAYART, Cristian	JU 162, VI 161
BISSIO, Emiliano	VI 025
BLANCO, Federico Carlos	JU 073
BLANCO CRIVELLI, Ximena	VI 141
BLANCO FERNÁNDEZ, María Dolores	MI 002, JU 111, VI 126
BLESA, Maria José	JU 035
BLESIO, Ayelén	JU 038
BLETLER, Caren	MI 082
BO, Clara	MI 239
BOADO, Lorena	MI 144
BOBADILLA, Fernando Javier	VI 020
BOBADILLA, Maria Liz	MI 156
BOCCO, José Luis	Oral MI 6
BOCKOR, Sabrina	SAMIGE VI 3, VI 168
BODNAR, Giovana Carolina	VI 058
BOEHRINGER, Silvia Irene	MI 129
BOF, María Julieta	MI 014
BOGADO, María Lucrecia	MI 140
BOGINO, Pablo Cesar	MI 101, MI 240
BOHACEK, Melisa	JU 223
BOHL, Luciana	JU 141
BOHL, Luciana Paola	VI 136
BOLEAS, Mariana	JU 047, JU 053
BOLLINI, Mariela	VI 154
BOLONDI, Maria Lujan	VI 181
BONAVENTURA, Romina	VI 078
BONESI, Lucila	VI 056, VI 025
BONETTO, César Celestino	JU 126
BONETTO, Matias	JU 091
BONIFACIO, Rocio	JU 147
BONILLA, José Oscar	MI 257, JU 115, VI 215, VI 245
BONINO, Maria Paz	VI 141
BONOFIGLIO, Laura	VI 034
BONOMO, Robert A.	JU 023
BONVEHÍ, Pablo	Oral JU 4, MI 080, MI 016, VI 059, VI 102
BORDA, Noemi	VI 076
BORDAGARAY, Valeria Carina	MI 014
BORDIGNON, Belén	JU 243
BORGO, Monica	MI 036, MI 045, MI 062
BORIO, Cristina	VI 257
BORRAJO, María Paula	JU 093, JU 101
BOSCH, Alejandra	JU 228
BOTTALE, Alejandro J.	MI 147
BOTTIGLIERI, Marina	JU 039
BOTTINI, Enriqueta	JU 131
BOUVIER, León	JU 230

BRACALENTE, Fernando	SAMIGE VI 9
BRADANINI, María	MI 118
BRAECKMAN, Carlos	VI 059
BRAJTERMAN, Leonardo Sergio	VI 161
BRASIL DA SILVA, Matheus	MI 088, JU 082, VI 044
BRAVIZ LOPEZ, María Eugenia	JU 146
BRAVO, Rita Alejandra	JU 190
BRAVO FERRADA, Barbara	VI 248
BRENGI, Silvina	JU 252, JU 051, VI 046, VI 062
BRERO, María Luisa	JU 076
BRESER, María Laura	VI 136, JU 141
BRIGGILER, Ana María	Oral JU 8
BRIGGILER MARCÓ, Mariángeles	MI 167, MI 168
BRITO, María Gabriela	JU 225
BRITO DEVOTO, Tomás	VI 096
BRITOS FABIÁN, Luciana	JU 001
BRIZUELA, Natalia	VI 248
BROGLIO, Alicia	VI 141
BROM, Susana	VI 239
BROUARD URIBURU, Maria Del Rosario	MI 206, SAMIGE JU 1
BROVEDAN, Marco	MI 004, JU 237, VI 008
BRUBALLA, Andrea	MI 032, JU 230, VI 228
BRUGNONI, Lorena	VI 192, VI 193, VI 260
BRUGO, Florencia	JU 091
BRUNETTI, Florencia	JU 024
BRUNETTI, Jesús Emanuel	Oral JU 6, JU 150
BRUNO, Laura	Oral VI 1
BRUNO, María Elisa	VI 164
BRUNO, Marina Anabel	MI 096
BRUQUETAS, Azucena	JU 022
BRUSCHI, Julieta	JU 185, JU 189
BUCETA, Ruben C.	MI 237
BUCHACRA, Carim	MI 043
BUELONI, Bárbara	JU 012
BUENO, Dante	JU 135, JU 128, JU 129
BUENO, Nadia Soledad	MI 081, VI 080
BUES, Florencia	MI 016, VI 102
BUFFONI, Mariana	VI 002, JU 181, JU 180
BUFFONI ALMEIDA, Mariana	VI 197
BULACIO GIL, Natalia M.	VI 210
BULFONI, Mariana	JU 147
BURGÁN, Julia	JU 242, JU 246
BURGUEÑO, Lautaro	MI 092
BURLANDO, Patricia F	VI 074
BURNS, Patricia	JU 062, VI 190
BURUCÚA, Mercedes	MI 135, MI 151

BUSALMEN, Juan Pablo	VI 254
BUSCEMI, Luis	JU 247
BUSNELLI, Maria Pia	VI 209
BUSSO, Carlos	MI 108
BUSTAMANTE, Ana Victoria	MI 246, JU 131, JU 246, JU 255
BUSTAMANTE, Pilar	JU 132
BUSTOS, Ana Yanina	VI 039, JU 032
BUSTOS, Carla	VI 139
BUSTOS, Luciana	MI 221, VI 220
BUSTOS FIERRO, Carolina	VI 079
BÜTTNER, Karina Andrea	VI 064
BUZZOLA, Fernanda	Oral VI 2, Oral VI 7, MI 034, JU 027, JU 257
CABALLERO, Juan José	VI 211, MI 212
CABALLERO, Patricia	MI 029
CABALLERO, Verónica Laura	JU 060
CABANNE, Ana María	JU 059
CABELLO, Daiana	MI 128
CABELLO, Marta	MI 113, MI 238, MI 239
CABEZA, Matías S	JU 088, VI 099
CABRAL, Graciela	VI 156
CABRERA, Jose Luis	MI 229
CABRERA, Josefina	VI 130
CABRERA, Juan J.	JU 110
CACCIAMANO, Juan Pablo	JU 091
CACCIATO, Claudio	JU 131
CÁCERES, Maria Emilia	Oral VI 2, Oral VI 7, MI 034
CÁCERES GUIDO, Paulo	MI 208
CADARIO, María Estela	MI 070, VI 063, VI 074
CADENAS BERECOECHEA, Alejandro	VI 100
CADOCHE, Lilian	JU 066
CADONA, Jimena	MI 246, JU 246, JU 255
CAFFARENA, Dolores	VI 064
CAFFER, María Inés	MI 012, JU 051, JU 252, VI 062
CAFIERO, Juan Hilario	MI 250, MI 253
CAGNOLA, Gonzalo Nicolás	JU 214
CAIMI, Karina	MI 254
CAINZOS, Romina Paola	MI 136
CALAFAT, Mario	VI 122
CALAMANTE, Gabriela	Oral JU 7
CALGARO, Ileana Maillén	JU 047, JU 053
CALLEGARI, Eduardo Alberto	MI 257, JU 115
CALVET, Estela Maris	MI 128
CALVINHO, Luis	MI 123, MI 128, JU 141, VI 134
CALVO, Gustavo	MI 034
CAMARGO, Alejandra	JU 178
CÁMERA, Nancy G	JU 192

CAMERANESI, María Marcela	MI 255, VI 258
CAMMARATA, Robertina	JU 111, VI 126
CÁMPORA, Javier	JU 038
CAMPORRO, Julieta	VI 075
CAMPOS, Carmen	MI 216
CAMPOS, Eleonora	MI 118, MI 191, MI 192, JU 124
CAMPOS, Josefina	Oral MI 4, Oral MI 8, MI 075, JU 014, VI 062
CAMPOS, Patricia Karina	MI 155, JU 143, JU 144, JU 145
CAMPOS, Rodolfo Hector	VI 150
CAMPRA, Noelia	JU 137
CANET, Zulma	VI 162
CANGELOSI, Adriana	VI 135
CANO, Fernanda Cecilia de Los Angeles	VI 045
CANTEROS, Cristina Elena	Oral JU 5, MI 081, JU 085, JU 086, VI 089, VI 099
CANTEROS, Karen Anthonela	MI 100
CANTÓN, Germán	MI 122, VI 147
CANTORO, Renata	MI 211
CAÑETE, Andrea	JU 035
CAÑETE, Gustavo	JU 247
CAP, Mariana	MI 200, MI 245, JU 194, JU 172,JU 173
CAPDEVILA, Abelardo	JU 057
CAPECE, Paula	JU 081
CAPPELLARI, Lorena	MI 235, MI 261
CAPPELLINI, Natalia	MI 058
CAPRA, María Luján	JU 062, JU 121, MI 223
CAPRILE, Luis	MI 046, JU 034, JU 041
CAPUCHINELLI, Agostina	JU 037
CARABAJAL, María Ayelén	SAMIGE VI 4
CARABAJAL TORREZ, José Agustín	MI 215
CARBALLAL, Guadalupe	JU 160
CARBALLO, Romina	MI 166
CARBONARI, Claudia Carolina	Oral MI 4, MI 068, JU 033, VI 066
CARBONE, Ruth	MI 064
CARBONI, Victoria	MI 119
CARDOZO, Marina Cecilia	MI 093
CARENA, Alberto	VI 102
CARLETTI, Susana	MI 094, VI 238
CARPINETTI, Bruno	MI 133
CARRANZA, Cecilia	VI 111, VI 094
CARRARA, Carlos	VI 196
CARRARO, Diogo César	VI 058
CARRAU, Analía	MI 203
CARRAU, Francisco	MI 222
CARRAZA, Cecilia	VI 113
CARRERA, Analía L.	VI 129
CARRILLO, Ana	JU 117, JU 105, VI 117

CARRILLO, Emanuel	JU 228
CARRION, Natalia	MI 048
CARRIZO, Alfonso Emanuel	JU 104
CARRIZO, Carla Belén	JU 104
CARRIZO, Silvia Guadalupe	VI 101
CARULLA, Mariana	VI 071
CARVALHO, Isadora Santos De	JU 184
CARVELLI, Lorena	MI 029
CASABONNE, Cecilia	MI 046, JU 003, JU 034, JU 041, JU 174, JU 175,
CASAGRANDE, Andrea Verónica	JU 038
CASALE, Roberto	MI 039
CASANAVE PONTI, Sheila	VI 108
CASANOVA, Natalia A.	VI 135
CASANOVA, Norma	MI 251
CASANOVAS, Elda Mabel	MI 234, VI 234
CASAS, Adriana	MI 034
CASAUX, Laura	VI 002
CASELLI, Emilia	JU 023
CASIMIRO, Lucas Kenzo Shimabukuro	JU 184
CASONATTO, Alexandre	VI 058
CASSATARO, Juliana	Oral VI 1
CASTELLANI, Lucas	MI 231, VI 239, VI 240
CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucia	Oral VI 8, VI 204, VI 128, VI 210, VI 223
CASTELLARI, Claudia	JU 187, VI 087, VI 108, VI 093
CASTELLI, Edgardo	MI 040, VI 040
CASTELLI, Victoria	JU 081
CASTELLO, Alejandro	MI 146, MI 157
CASTELLO, Liliana	VI 030
CASTELLS, Maria Laura	MI 189
CASTILLA, Viviana	Oral JU 6, JU 071, JU 150, VI 155
CASTILLO, Pablo	MI 138
CASTRILLO, Maria Lorena	JU 098, VI 106
CASTRO, Damián	VI 147
CASTRO, Eliana F	VI 154
CASTRO, Guillermo R.	JU 011, JU 012
CASTRO, Marcela	MI 216
CASTRO, María Fernanda	VI 245
CASTRO, Natalia	MI 051
CASTRO PEREIRA, Dariane	MI 087, MI 088, JU 048, JU 082, VI 044
CATALANO, Florencia	JU 252, JU 051, VI 062
CATALDI, Angel	MI 243, JU 254, JU 226
CATALINA, Van Baren	MI 208
CAVAGLIERI, Lilia	MI 102
CAVAGLIERI, Lilia R.	VI 177, VI 178
CAVALITTO, Sebastián	MI 110, MI 213, MI 214, JU 108
CAVALLARO, Lucía	JU 158, VI 154

CAVELLO, Ivana	MI 110, MI 213, MI 214, JU 108
CAYRÉ, María Elisa	MI 216, JU 223
CAZZOLA, María Laura	MI 064
CEBALLOS, Silvana A	VI 079
CECCHINI, Laura	MI 051
CÉCCOLI, Constanza	MI 147
CECCOLI, Romina D.	VI 219
CEJA-NAVARRO, Javier	JU 124
CEJAS, Daniela	VI 019
CEJAS, Nahuel	JU 075
CELAYA, Federico	Oral MI 3, MI 015
CELESTINO DE SOUZA, Ândrea	MI 087, MI 088, JU 048, JU 082, VI 044
CELI, Ana Beatriz	JU 133
CENDOYA, Eugenia	VI 091
CENTRON, Daniela	MI 047, JU 030, VI 033, VI 125, VI 014
CERIANA, Paola	Oral MI 3, MI 011, JU 016
CERIANI, Maria Carolina	MI 127, JU 125, VI 145
CERLETTI, Micaela	MI 232
CERÓN CUCCHI, María Esperanza	VI 147
CERQUETTI, Cristina	JU 027, JU 028
CESAR, Carina	Oral MI 5
CEVALLOS, Karen	MI 164
CHABALGOITY, José	SAMIGE VI 4
CHACANA, Pablo	JU 129, VI 140, VI 029
CHACÓN, Yone	MI 085
CHADE, Miriam	JU 022, VI 010, VI 018
CHAGRA, Maria Florencia	JU 056, JU 058
CHAGRA, Yamila	MI 121
CHAIN, Cecilia Y.	JU 011
CHALABE, Sofía	VI 059
CHAMORRO, Antonella Ayelen	MI 183
CHAPANA, Agostina	MI 029
CHÁVES, Silvina	JU 209
CHAVEZ, Marina Magalí	MI 011
CHÁVEZ DÍAZ, Lucía	JU 170
CHECA, Susana	SAMIGE JU 2
CHELALICHE, Anibal Sebastian	MI 205
CHIACCHIERA, Stella	VI 113, VI 142
CHIANI, Yosena	MI 124
CHIAPPERO, Julieta	MI 235, MI 261
CHICHIZOLA, M. Griselda	JU 192
CHIESA, María Amalia	JU 099
CHIMENO, Selva Valeria	MI 169, MI 184, MI 185
CHIMENO, Valeria	MI 195
CHIMENO ZOTH, Silvina	VI 162
CHINEN, Isabel	Oral MI 4, JU 033JU 044, MI 068, VI 066

CHIOTTA, Maria Laura	MI 211
CHOLICH, Valeria	SAMIGE VI 9
CHULZE, Sofía	MI 211, JU 198, VI 186
CIAN, Raul	VI 137
CIANCIO CASALINI, Lucila	VI 249, VI 207
CICLIK, Iván	MI 196
CIKLIC, Iván	MI 195
CINGOLANI, Maria Celeste	JU 172
CIPOLLA, Lucía	MI 063, VI 047, VI 055
CISTERNA, Daniel Marcelo	VI 078
CIURLANTI, Tomás Francisco	VI 110
CIVIT, Diego	JU 189
CLAUDIA, Oviedo	VI 005
CLEMENTI, Victoria	VI 199, VI 050
CLOZZA, Mario	MI 095
CLUSA, Mónica	MI 051
COCHERI, Cecilia	MI 091
COELHO, Rocio	JU 159
COGLIATI, Sebastián	VI 050, VI 176, VI 198, VI 199
COHEN, Emilia	VI 071
COLACCINI, Facundo	JU 074
COLELLO, Rocio	JU 130, JU 250
COLIN, Veronica Leticia	MI 112, JU 109, JU 202
COLINA, Santiago Emanuel	MI 152
COLLA, Delfina	JU 096, JU 097
COLLAVINO, Mónica Mariana	MI 093
COLLIONI CONSTANTE, Caroline	MI 087, MI 088, JU 048, VI 044
COLLIVADINO, Leandro	MI 035, VI 256
COLOMBATTI, María Alejandra	VI 082, VI 084
COLOMBO, Laura	VI 052, VI 012
COLQUE, Claudia Antonella	VI 250
COLQUE CARO, Luis Adrian	MI 122
COLUCCI, María Celeste	JU 161, VI 160
COMBINA, Mariana	MI 169, MI 170, MI 184, MI 185, MI 197, MI 198
COMELLI, Raul Nicolas	MI 119, JU 120
COMERCI, Diego José	JU 243
CONESA, Agustín	JU 126, JU 141
CONSOLO, Verónica Fabiana	JU 217, VI 206, VI 118
CONTÍN, Mario Daniel	JU 207
CONTRERAS, Karina Isabel	MI 059
CORBALÁN, Natalia	VI 133
CORDO, Sandra	VI 152
CÓRDOBA, Alejandra	MI 041
CORDOBA, Susana	MI 081, MI 089, VI 018, VI 027, VI 103
CORDOMA, Natalia	VI 085
CORIA, Lorena	Oral VI 1

CORIGLIANO, Cecilia	VI 071
CORIMAYO, Sheila	MI 171
CORONEL, Camila Denise	JU 216, JU 218
CORRADO, María Belén	MI 069, MI 172, MI 177, JU 069
CORREA, Rita Mariel	JU 161, JU 163, VI 160
CORREA DEZA, María Alejandra	VI 200, VI 205
CORREA OLIVAR, Gabriela	VI 167, JU 220
CORREGIDOR, Paula Alejandra	JU 104
CORSO, Alejandra	Oral MI 2, Oral MI 3, Oral MI 6, MI 003, MI 011, MI 015, MI 017, MI 018, MI 019, MI 025, MI 060, JU 002, JU 007, JU 008, JU 013, JU 016, JU 018, JU 237, VI 003, VI 007, VI 016, VI 017,VI 041
CORTADI, Adriana Amalia	MI 203
CORTESE, Iliana Julieta	JU 098
CORTEZ, Nestor	JU 258
CORTHEY, Alberto	VI 257
CORTI, Rodolfo	JU 059
CORTI MONZÓN, Georgina	JU 204, SAMIGE JU 3
COSTA, Agustina	VI 009, VI 067
COSTA, Cristina S	MI 224, JU 224
COSTA, Julia	VI 116
COSTA, Magdalena	MI 002, JU 111
COSTANZO, Noelia	VI 051
COSTAS, Dardo	VI 159
COTABARREN, Aixa	JU 096, JU 097
COVACEVICH, Fernanda	VI 118
CRAIG, María Isabel	JU 129
CRAVERO, Silvio	MI 256, VI 147, VI 251
CREPALDI DUARTE, Felipe	VI 058
CRESPO, Cira	VI 176, VI 198
CREUS, Cecilia	JU 093, JU 100, JU 101, VI 107, VI 112, VI 232
CRISTALDO, Paula	JU 014, VI 005
CRISTÓBAL, Héctor A.	VI 127, VI 133
CRISTOBAL, Sabrina	JU 087, VI 061
CRISTÓBAL-MIGUEZ, Josefina A.	MI 092, JU 090
CRISTOS, Diego	JU 173
CROTTA ASIS, Agostina	JU 074, JU 251, , VI 246
CRUZ, Elias	MI 230, VI 223
CRUZ, Mercedes Cecilia	MI 173
CUATZ, Daniel	MI 011
CUBITTO, María Amelia	JU 112, VI 120
CUELLO, Raúl Andrés	MI 197
CUELLO, Veronica Ruth	VI 049
CUENCA, Noelia	JU 014
CUERDA, María Ximena	VI 082, VI 084
CUERVO, Maria Paula	JU 193
CUESTAS, María	VI 096
CUFFINI, Cecilia	MI 070, JU 021, JU 064, VI 158

CUIZA, Soledad	VI 069
CULASSO, Andrés	JU 160
CUNDON, Cecilia	VI 141
CUNHA BOLZICO, Bruna	MI 119
CURÁ, Alfredo José	MI 092
CURÁ, José Alfredo	JU 090
CURATTI, Leonardo	JU 216, JU 217, JU 218, VI 216, VI 232
CURIOTTI, Jimena	MI 124
CUROTTO, Ignacio	MI 095
CURUTCHET, Gustavo	MI 110, JU 108
CZECH, Andrea	Oral JU 4, VI 156
CZERNIKIER, Alejandro	MI 154, JU 151
D´ALBORA, Cecilia	MI 160
DA CUNHA WILLERS, Denise	MI 087, MI 088, JU 048, VI 044
DA SILVA, Paulo Roberto	VI 143
DALLAGNOL, Andrea Micaela	MI 174, MI 175, MI 176
DALLARD, Bibiana	MI 123, MI 128, VI 134
DALMAN, Maria Del Carmen	VI 052, VI 012
DALMASSO, Lucas Pablo	MI 106
D'ALMEIDA, Romina Elisa	VI 011
DAMONTE, Elsa	MI 153, VI 155
DANELLI, Tiago	VI 058
DANGIOLO, Gastón	MI 072
DANIEL, David	JU 064
DANIEL, María Alejandra	VI 208
DANIELA, Aballay	VI 054
DANILOVICH, Mariana Elizabeth	VI 202
D'ANTUONO, Alejandra	JU 155
DANZE, Diego	Oral MI 3, MI 025, JU 007, JU 013
DARDIS, Carolina	MI 259, JU 239, JU 240
DATTERO, Maria Elena	MI 025, JU 002
DAVALOS, Florencia	MI 085
DAVEL, Graciela Odelsia	Oral JU 5, MI 081, JU 080, JU 085, VI 080
DAVID, Agustina Soledad	JU 038
DAVIES, Cristina Verónica	MI 069, MI 172, MI 177,
DAVIES-SALA, Carol G.	VI 124
DAZA, Luisa	JU 117, VI 117
DE ANTONI, Graciela	MI 130
DE BELDER, Denise	Oral MI 2, MI 015, MI 018, JU 007
DE BOEVRE, Marthe	JU 191
DE CARVALHO FERREIRA, Isabeli	VI 104
DE CASTRO, Rosana	MI 232, MI 260, VI 242
DE LA BARRERA, Silvia	MI 074
DE LA CAL, Carolina	VI 153
DE LA RIESTRA, Raquel	VI 076
DE LA TORRE, María Adela Guadalupe	JU 121

DE LERA GARRIDO, Fernando J.	VI 230
DE LILLO, Leonardo	MI 161
DE MAIO, Ramiro Jorge	JU 176
DE MATTEO, Elena Noemí	MI 162
DE MENDIETA, Juan Manuel	Oral MI 2, Oral MI 3, MI 003, MI 017, JU 013, JU 016, JU 018, VI 003, VI 007, VI 017
DE MENDOZA, Diego	SAMIGE VI 5, VI 227
DE MORENO, Alejandra	VI 175
DE OLIVEIRA, Thilara Alessandra	VI 058
DE PAULIS, Adriana	Oral MI 5
DE SAEGER, Sarah	JU 191
DE SOUZA CAPPELLETTI, Gabriella	VI 104
DE SOUZA DA MOTTA, Amanda	MI 107
DE SOUZA MARTINS, Daniela	MI 087, MI 088, JU 048, VI 044
DE SOUZA SAMPAIO, Paulo André	MI 087, JU 082
DE TROCH, Marleen	JU 224
DE URRAZA, Patricio Jose	MI 190
DEBIAGGI, Maríaflorencia	Oral VI 4, MI 141
DEFFES, Graciela	MI 045
DEGANO, Alicia	VI 189
DEGIOVANNI, Gabriela	JU 035
DEGIUSEPPE, Juan Ignacio	MI 145, JU 165
DEL BO, Carolina	MI 121
DEL CANTO, Agostina	VI 115
DEL CANTO, Felipe	JU 197
DEL GOBBO, Luciana Melisa	MI 112
DEL MÉDICO ZAJAC, María Paula	Oral JU 7
DEL MONACO, Silvana	VI 222
DEL PAPA, María Florencia	MI 250, MI 253, JU 236, VI 110
DEL REAL, Javier Alonso	MI 198
DELFEDERICO, Lucrecia	MI 189, JU 244
DELFINI, Claudio Daniel	JU 202
DELGADO, María Belén	MI 136
DELGADO, Micaela	MI 049
DELLA ROSA, Paola	MI 122
DELLA VEDOVA, Maria Cecilia	JU 115
DELLACASSA, Eduardo	MI 222
DELUCA, Gerardo Daniel	MI 115, MI 136, JU 158, JU 161
DELUCHI, Silvana	JU 076
DEPETRIS, Gustavo	VI 147
DESCHUTTER, Enrique Jorge	MI 163
DESIMONE, Isabel	VI 074
DEVIA, Edgardo Agustín	MI 238
DEYÁ, Cecilia	MI 009, MI 113
DEYMIÉ TERZI, María Celina	MI 212, VI 211
DEZA, Natalia	Oral MI 4, MI 068, JU 033, JU 044, VI 066
DI CAPUA, Cecilia	JU 258

DI CONZA, José	MI 027, JU 024, JU 025, JU 139, VI 009, VI 024, VI 067, VI 138
DI GIACOMO, Ana Lucía	VI 177, VI 178
DI GREGORIO, Sabrina	VI 035
DI MASI, Susana Noemi	VI 109
DI SALVO, Luciana	JU 092
DI SANTO, Vanessa	JU 193
DI SANTOLO, Analía	MI 036
DIACOVICH, Lautaro	VI 252
DÍAZ, Alejandra R.	SAMIGE VI 5
DÍAZ, Christian Ángel	VI 163
DIAZ, Gabriela Verónica	JU 222
DÍAZ, María Susana	MI 004, MI 082
DIAZ, Maria Susana Del Lujan	MI 045, MI 062, VI 008
DIAZ, Mariano	MI 207
DÍAZ, Mónica	VI 073
DÍAZ, Mónica Roxana	JU 247
DIAZ, Natalia Veronica	MI 020
DÍAZ, Pablo Rafael	JU 101, VI 107
DIAZ, Rocio Ester	Oral VI 2, Oral VI 7, MI 034
DIAZ, Sofia M.	JU 111
DÍAZ PEÑA, Rocio	MI 219, SAMIGE VI 7, SAMIGE VI 8
DIAZ-CARRASCO, Juan M.	VI 135
DIESER, Silvana Andrea	JU 126
DIETZ, Rocio Milagros	MI 100
DIRIALDI, Noelia Cecilia	MI 063
DISALVO, Vilma	VI 141
DO NASCIMENTO, Mauro	VI 216
DOGI, Cecilia	MI 102
DOLCINI, Guillermina	MI 127, JU 125, VI 145
DOLOTOWICZ, Belén	VI 081
DOMENECH, Isabel	JU 159
DONAMARÍA, Julián	JU 219
DORNELLES, Luana	JU 118
DORRESTEIN, Pieter C.	MI 241
DOTTA, Gina	MI 023
DOTTO, Cristian	Oral VI 7, SAMIGE MI 4, JU 257
DOWNIE, J.Allan	MI 242
DRAGHI, Walter	MI 253, MI 231
DRAGO, Silvina	VI 137
DROPA, Milena	JU 024, VI 022, VI 023
DSRNLM, Grupo	JU 085
DUBINI, Lucas	JU 091
DUCASA, Nicolás	VI 149
DUCASSE, Daniel A	MI 241
DUQUE, Ana Luiza Rocha Faria	VI 190
DURÁN, Ludmila B	MI 221, VI 220

DURÁN, Rosario	JU 077
DURAND, Karina	JU 164
DUS SANTOS, María José	MI 142, JU 134
DUTTO, Magdalena	MI 044
ECHARREN, María Laura	VI 253
ECHAVARRÍA, Marcela	JU 160
ECHES PERUGINI, Márcia Regina	VI 058
ECHEVERRÍA, María Gabriela	MI 133, MI 152
ECHEVERRY PRIETO, Lena Carolina	VI 121
EFRON, Adriana	MI 038
EGEA, Ana Lia	Oral MI 6
EGOBURO, Diego	SAMIGE VI 8, MI 219, JU 214
EGUIGUREN, Paula	MI 252
EICHEL, Marcos	VI 119
EIRIN, María Emilia	JU 129
ELENA, Alan	VI 019
ELERA OJEDA, Rosario Nelly	MI 125, JU 177
ELIAS, Marta	MI 045
ELISIRI, María Elisa	MI 086, JU 005
ELLIS, Alejandro	JU 160
ELSEGOOD, Camila	JU 052
ENGLER, Carolina	MI 123
ENSINCK, Delfina	VI 252
ENTROCASSI, Andrea Carolina	VI 064
EPSZTEYN, Sergio	JU 188
ERAZO, Jessica Gabriela	JU 107V, I 114
ERIJMAN, Leonardo	VI 124, SAMIGE MI 3, SAMIGE MI 4
ERMINI, Federico	JU 149
ERRA BASELLS, Rosa	VI 004
ERREA, Agustina	MI 032, VI 172
ERRECALDE, Laura	MI 011
ERREGUERENA, Ignacio Antonio	VI 143
ESCALANTE, Jessica Rocío	MI 106
ESCOBAR ORTEGA, Jhovana Silvia	MI 105
ESPAÑA DE MARCO, Maria Jose	VI 154
ESPAÑA GARCÍA, Karool	MI 164
ESPARIZ, Martín	VI 225
ESPECHE, Javier	JU 076
ESPEGEL, Gabriela	MI 076
ESPERANTE, Sebastián	JU 155
ESPINOSA GARCIA, Maylen	MI 164
ESTERLIZZI, Richard Luis	MI 021, MI 055
ESTEVAO BELCHIOR, Silvia	VI 069
ESTEVES VIDAL, Belén	VI 224, VI 226
ETCHECOPAZ, Alejandro	VI 096, VI 139
ETCHENIQUE, Luz	VI 068

ETCHEVERRIA, Analia	MI 039, JU 045, JU 130, JU 250, VI 173
ETCHEVERRY, Clara	JU 124
ETCHEVERRY, Miriam	JU 089, VI 105
EXENI, Ramón	JU 044
FABBRI, Cintia	Oral JU 8, MI 150
FABI, João	VI 189
FABIANI, Matias	VI 154
FACCONE, Diego	Oral MI 3, MI 015, JU 237, VI 016
FADDA, Silvina	JU 167
FAGGIOLI, Valeria Soledad	MI 238
FAJARDO, Sandra	VI 083
FALAK, Adriana	MI 011
FALCONE, Darío	VI 136
FAMIGLIETTI, Angela	Oral MI 7, MI 061, JU 029, JU , JU 057, VI 060, VI 075
FANOVICH, Maria Alejandra	MI 090, JU 009
FARA, Maria Agustina	VI 174, VI 175
FARACE, Maria Isabel	MI 040, VI 040
FARACE, Pablo Daniel	MI 256, VI 251
FARBER, Marisa	MI 018
FARIAS, Maria Eugenia	JU 118, JU 234, JU 259
FARINA, Hernán Gabriel	VI 028
FARIÑA, Julia Ines	VI 165, VI 166
FARRANDO, Silvina	JU 178, JU 179
FEHÉR, Anikó	MI 191
FEHÉR, Csaba	MI 191
FELICIOTTI, Daniela Soledad	MI 071
FELLNER, María Dolores	JU 164
FENÁNDEZ LAUSI, Adriana	Oral MI 2
FERAUDO, Georgina Alicia	MI 050, MI 057
FERELLA, Alejandra	MI 142
FERNANDES, Mayra Vieira Alves	JU 184
FERNANDEZ, Analia	JU 008
FERNANDEZ, Armando Eduardo	MI 203
FERNANDEZ, Diana	MI 098, MI 103
FERNÁNDEZ, Franco	MI 018
FERNANDEZ, Gabriela Araceli	VI 154
FERNANDEZ, Jennifer	MI 047
FERNÁNDEZ, Julián	Oral JU 5, VI 089, VI 080
FERNÁNDEZ, Leticia Andrea	MI 104, MI 108, MI 131
FERNÁNDEZ, Macarena	JU 093, VI 232
FERNÁNDEZ, Mariano	JU 173
FERNÁNDEZ, Nicolás	JU 114
FERNANDEZ, Pablo Marcelo	Oral VI 8, MI 230, VI 223
FERNANDEZ, Pilar	SAMIGE VI 5
FERNANDEZ, Stella Maris	JU 056, JU 058
FERNÁNDEZ BENEVENTO, Andrés	MI 075

FERNÁNDEZ BRANDO, Romina	MI 032
FERNÁNDEZ CANIGIA, Liliana	MI 086, JU 005, JU 026, VI 030, VI 046
FERNANDEZ DO PORTO, Dario	Oral MI 8, MI 010, MI 075
FERNÁNDEZ GNECCO, Gabriela Amancay	VI 118
FERNÁNDEZ PINTO, Virginia	JU 094, JU 095
FERNANDEZ TOSCANO, Mauro	JU 148
FERNÁNDEZ-BRANDO, Romina	JU 230, VI 228
FERNANDEZ-MIYAKAWA, Mariano E.	VI 135
FEROLA, Eliana Belén	MI 010
FERRADO, Joana Belén	JU 220
FERRARA, Micaela Magali	VI 019
FERRARI, Ana	JU 211
FERRARI, Celeste	MI 232
FERRARI, María Celeste	MI 260
FERREIRA DE OLIVEIRA, Caio	VI 058
FERREIROS, José A.	MI 039
FERRERO, Marcela	JU 209, VI 015, VI 205
FERRUFINO, Cecilia Gabriela	JU 134
FESSIA, Aluminé Soledad	JU 126
FIEDLER, Jacqueline	JU 022, VI 010
FIER, Guido	MI 237
FIGOLI, Cecilia Beatriz	JU 228
FIGUEROA, Carlos	JU 144, JU 145
FIGUEROA, Myrian	JU 050, VI 070
FIGUEROA, Roque	JU 024
FIGUEROA, Yamila	JU 180, JU 180, VI 197
FIGUEROA ESPINOSA, Roque Arnulfo	VI 009, VI 067
FIGUEROLA, Eva	SAMIGE MI 4
FILIP, Rosana	VI 018
FILOSAFIA, Julián E.	MI 092
FINA MARTIN, Joaquina	SAMIGE VI 3, VI 168
FINUCCI, Baltasar	JU 041
FIORENTINO, Gabriela	JU 044
FIORENTINO, María Andrea	MI 122, MI 137
FIORILLI, Graciela Noemí	JU 019
FIORITO, María Micaela	JU 074
FLAMARIQUE, Julieta	JU 206
FLICHMAN, Diego	MI 162
FLORENTÍN CANDIA, Melisa	MI 178
FLORES, Cintia Belen	JU 205, JU 208, JU 212, VI 204, VI 212, VI 214
FLORES, Constanza	MI 157
FLORES, Jessica Alejandra	JU 060
FLORES MARROQUIN, Carolina	MI 073
FOCHS, Sonia	VI 069
FOCKE, María Belen	MI 106
FONSECA, Maria Isabel	MI 205, JU 210, VI 165, VI 166, VI 243, VI 244

FONT, Graciela	VI 200
FONTANA, María Paula	SAMIGE MI 3
FORASTIERO, Agustina	MI 089, VI 103
FORESTO, Emiliano	MI 101, MI 240
FORNASERO, Laura Viviana	JU 236, VI 110
FORRELLAD, Marina Andrea	JU 077
FORTUNATO, María Susana	MI 179, JU 111, JU 207
FOSSA, Sebastián E.	MI 147
FOSSATI, Sofia	MI 060, VI 016, VI 041
FOUSSAL, Maria Delia	Oral JU 4
FOX, Bárbara	JU 005, VI 046
FRAGOMENO, Melisa	VI 183
FRANCALANCIA, Verónica	MI 070, MI 071
FRANCISCO, Marcos	VI 050, VI 176, VI 198, VI 199
FRANCO, José Ismael	MI 077
FRANCO, Pablo	VI 096
FRANCO, Yubelly	MI 036
FRANCOIS, Nora	JU 093
FRANTCHEZ, Victoria	MI 160
FRAZZON, Ana Paula	JU 118
FREIJE, Julieta	VI 076
FREIRE, Fernanda	VI 191
FREIRE, María Cecilia	JU 162, VI 078
FRESCHI, Mariela	VI 130
FRÍAS, María de Los Ángeles	JU 032
FRIZZO, Laureano Sebastián	Oral VI 3, JU 136
FRUTOS, María Celia	MI 070
FUENTES, Federico	VI 228
FUENTES, Giselle	MI 090, JU 009
FUENTES, María Soledad	JU 109
FULCO, Micaela	JU 173
FUMIE YAMADA OGATTA, Sueli	VI 058
FUNES, Paula	MI 044, MI 082, MI 083, JU 081
FURIASSE, Daniela	MI 052
FUSARI, Marcia	Oral VI 3, JU 136
FUSELLI, Sandra	MI 090, JU 009
GAGETTI, Paula	Oral MI 6, MI 003, MI 011, MI 060, VI 016, VI 017, VI 041
GAGO, Gabriela	JU 074, JU 251, VI 246, VI 252
GALÁN, Angélica	VI 014
GALANTE, Nadia Soledad	MI 216, JU 223
GALANTERNIK, Laura	VI 035
GALARZA, Patricia	JU 014, JU 247, VI 005, VI 073
GALASSI, Mariela Verónica	JU 038
GALDEANO, Ernestina	MI 093
GALELLI, Mirta Esther	JU 231
GALERA, Ivana Laura Delia	VI 224, VI 229

GALIAN, Liliana Rosa	MI 183
GALLACE, Maria Eugenia	MI 106
GALLARDO, Maria Candelaria	MI 222, VI 194
GALLEGO, Alfredo	MI 179, JU 111, JU 207
GALLEZ, Llliliana María	MI 131
GALLI, Lucia	MI 002, JU 111, JU 128
GALLIANI, Valentina	MI 167
GALLO CALDERON, Marina	MI 144
GALLO VAULET, Lucia	JU 148
GALLY, David	VI 228
GALVÁN, Adriana Emilce	JU 209
GALVAN, Estela Maria	MI 209, MI 225
GALVAN, Virginia	SAMIGE VI 9
GALVÃO, Julia Arantes	MI 181, MI 182
GAMARNIK, Marile	JU 092
GAMARRA, Soledad	JU 088, VI 099
GAMARRA ESPÍNDOLA, Natalia	MI 176
GAMBANDÉ, Telma	JU 038
GAMBARO, Rocío C.	JU 011
GÁMEZ-ESPINOSA, Erasmo	MI 009, MI 113, VI 201
GARANZINI, Debora	Oral JU 7
GARAVAGLIA, Betiana	JU 119, JU 245
GARAVAGLIA, Matias	JU 233
GARBARELLO, María Florencia	MI 158
GARBASZ, Claudia	Oral MI 2
GARCIA, Alejandro	MI 080
GARCÍA, Ana	MI 074
GARCIA, Cybele	SAMIGE VI 7, MI 153, VI 152
GARCIA, Daiana	JU 089, VI 105
GARCIA, Elizabeth Andrea	JU 073
GARCIA, Gisela	MI 102
GARCÍA, Irene	MI 082
GARCÍA, Jorge Braulio	JU 149
GARCIA, María Eva	JU 010, VI 042, VI 048
GARCÍA, María José	JU 138, VI 187
GARCÌA, Mauro Daniel	VI 173
GARCIA, Miriam	MI 021, MI 055
GARCÍA, Sandra Myriam	VI 160
GARCÍA, Susana	JU 057
GARCÍA CASALI, María Florencia	MI 095
GARCÍA DE SALAMONE, Inés Eugenia	MI 105, JU 092
GARCÍA DE VIEDMA, Dario	VI 083
GARCIA EFFRON, Guillermo	JU 088, VI 099
GARCÍA LÁZARO, Rocío	VI 028
GARCÍA LÓPEZ, Guadalupe	MI 179, JU 111, JU 207
GARCÍA MARTÍNEZ, Joaquín C.	MI 228, SAMIGE JU 5, VI 230

GARCÍA RÍOS, Estefanía	VI 255
GARCÍA VÉSCOVI, Eleonora	SAMIGE VI 4, JU 238
GARMENDIA, Gabriela	MI 110, MI 213
GARNIER, Isabel Cristina	JU 056, JU 058
GARÓFALO, Ailin	JU 027, JU 028
GARRIDO, Mercedes	MI 118, MI 191, MI 192
GARRO, Carlos Javier	JU 133
GARRO, Grisel	VI 100
GARRO, Marisa Selva	VI 170, VI 171
GARROTE, Graciela Liliana	VI 172, VI 184
GASONI, Laura	JU 103
GATTI, Graciana	MI 139
GAUDENZI, Florencia	VI 009
GAUDENZI ACUÑA, Florencia	VI 085
GAUFFIN, Paola	VI 169
GAUFFIN CANO, Maria Paola	VI 180, VI 181
GEFFNER, Jorge	MI 161
GEHRKE, Ana	Oral VI 2
GENESONI, Graciela	MI 043
GENI, Bruni	MI 043
GENOULA, Melanie	VI 081
GENOVESE, Diego Bautista	VI 192
GENTILI, Alejandro Raúl	JU 168
GENTILUOMO, Jimena	JU 026, JU 180, JU 181, JU 172, VI 197
GEOGHEGAN, Patricia	VI 135
GERARD, Liliana Mabel	MI 069, MI 172, MI 177, JU 069
GERBINO, Esteban	MI 038
GERENNI, Raúl M	JU 044
GEREZ, Carla	MI 215, MI 217, JU 221, VI 200
GERGOLET DIAZ, Donald Gabriel	SAMIGE JU 1
GERHARDT, Edilusa	VI 252
GERPE, Marcela	VI 143
GERSTEIN, Andrea	VI 100
GHIGLIONE, Barbara	JU 023, JU 024, VI 009
GHIGLIONE, Yanina	MI 154, JU 151
GHIO, Silvina	MI 192
GHIRINGHELLI, Pablo Daniel	VI 257
GIACOBONI, Gabriela Isabel	MI 002, MI 015
GIACOMANTONE, Candela	JU 059
GIACOMODONATO, Mónica	Oral VI 7, MI 034, JU 027, JU 028
GIADANS, Cecilia Graciela	MI 162
GIAJ MERLERA, Guillermo	MI 121
GIANECINI, Ricardo Ariel	JU 014, VI 005
GIANNI DE CARVALHO, Katia	JU 182
GIANNONE, Denise A.	Oral JU 6
GIGLI, Isabel	VI 122

GIL, Daniela	JU 156
GIL, Florencia	MI 252
GIL, Maria Florencia	MI 210, SAMIGE JU 4
GIL, Raul Andres	MI 257, JU 115
GIL, Silvina Lucía	JU 076
GILEAD, Tomás	MI 133
GILESKY, Natalia	MI 096
GIMENEZ, Adriana	VI 072
GIMENEZ, Maria Ines	VI 242
GIMENEZ MARTINEZ, Pablo	MI 090, JU 009
GIOFFRÉ, Andrea	MI 256, VI 251
GIORDANO, Damián Francisco	JU 107
GIORDANO, Francisco	VI 114
GIORDANO, Walter Fabian	MI 101, MI 240
GIORGIO, Ernesto Martín	JU 210
GIOVANAKIS, Marta	Oral MI 2
GIOVANNONI, Federico	MI 153
GIRARD, Daniela	MI 071, JU 162
GIRARD BOSCH, Maria Cecilia	JU 146
GIRARDI, Natalia	MI 158, JU 089, VI 105
GISMONDI, María Ines	VI 148
GIULIANO, Carla	VI 100
GIUSIANO, Gustavo	MI 024, MI 085, VI 086
GLIKMANN, Graciela	MI 146, MI 157
GODANO, Eduardo I.	JU 135
GODIA, José	MI 080
GODOY, Alejandra	MI 064
GODOY, Evangelina	JU 174, JU 175
GODOY, Manuel	SAMIGE VI 8
GOENAGA, Silvina	MI 150, JU 149
GOLDBAUM, Fernando	JU 155
GOLDMAN, Cinthia	JU 059
GOLDSMORTHI, Mariela	VI 158
GOLDSTEIN, Jorge	VI 135
GOLOWCZYC, Marina	MI 130, MI 187
GOMBERT, Andreas	VI 184
GOMES, Karina Alejandra	JU 165, VI 078
GOMEZ, Evangelina	JU 157, VI 162
GOMEZ, Gladys	VI 095
GÓMEZ, Gloria	MI 248
GÓMEZ, Johana	MI 100, JU 182
GOMEZ, Juan	MI 084
GOMEZ, Margarita	MI 021, MI 055
GOMEZ, Marisa	Oral VI 2
GOMEZ, Matias	JU 146
GOMEZ, Sonia Alejandra	Oral MI 2

GÓMEZ, Wileidy	MI 193
GOMEZ COLUSSI, Andrea Florencia	MI 053, VI 098
GÓMEZ VELÁSQUEZ, Juan Carlos	JU 083
GOMEZ-ZAVAGLIA, Andrea	MI 038
GONZALES ESCALANTE, Edgar	MI 027, JU 025, VI 024
GONZALES MACHUCA, Adrián	JU 026
GONZALES RODRIGUEZ, Arturo Octavio	Oral MI 1, MI 030
GONZALEZ, Agustina	MI 046, JU 003, JU 034, JU 041, JU 174, JU 175
GONZÁLEZ, Ana Julieta	MI 179, JU 207
GONZALEZ, Carolina	MI 053
GONZALEZ, Cecilia Alejandra	MI 155, JU 156
GONZALEZ, Cintia	MI 200
GONZÁLEZ, Edgar	VI 067
GONZALEZ, Fernanda Noemi	MI 142, JU 134
GONZALEZ, Gladys Nieves	JU 015
GONZÁLEZ, Joaquín Víctor	JU 161, VI 160
GONZALEZ, Jorge Enrique	VI 161
GONZÁLEZ, Juliana	MI 246, JU 255
GONZALEZ, Julieta	MI 064
GONZALEZ, Lisando	VI 037
GONZALEZ, Magali	MI 169, MI 184, MI 185
GONZALEZ, Marcela Susana	VI 031
GONZÁLEZ, María Belén	VI 260
GONZÁLEZ, María José	MI 218
GONZALEZ, Marisa	JU 146
GONZÁLEZ, Matías	MI 096, MI 099
GONZALEZ, Melisa	JU 014, VI 005
GONZÁLEZ, Mónica Angélica	VI 163
GONZALEZ, Ramon Alejandro	VI 144, MI 137
GONZALEZ, Sandra	JU 146
GONZÁLEZ, Silvia Adriana	MI 149
GONZALEZ, Sofia	VI 010
GONZALEZ, Valeria	VI 068
GONZÁLEZ ALTAMIRANDA, Erika Analía	JU 153
GONZALEZ CASTILLO, Brenda	MI 073
GONZÁLEZ FRAGA, Sol	VI 046
GONZALEZ GALLINI, Julieta	MI 031, MI 056
GONZALEZ HOLC, Victoria Guadalupe	JU 222
GONZÁLEZ MONTANER, Pablo	MI 074
GONZÁLEZ PASAYO, Ramón Alejandro	MI 109
GONZÁLEZ PEREYRA, María Laura	VI 177, VI 178
GORDILLO, Tania	SAMIGE VI 3, VI 168
GORNATI, Jésica	MI 168
GORORDO, Florencia	VI 222
GOTTIG, Natalia	JU 119, JU 245, VI 207, VI 249
GOVEDIC, Francisco	MI 058

GOYES, Israel	MI 022
GRAMAJO, Hugo	SAMIGE VI 2, SAMIGE VI 9, MI 078, JU 074, JU 099, VI 246, VI 252
GRAMBLICKA, Georgina	MI 074
GRAMISCI, Betina	JU 211
GRANADOS, Graciela	MI 036, MI 044, MI 062
GRANDE, Sonia	JU 140, JU 201
GRANDIS, Erica	MI 159
GRAÑA, Martín	VI 082
GRASSOTTI, Tiela	JU 118
GRAU, Roberto	VI 050, VI 169, VI 176, VI 198
GRAVISACO, María José	VI 148, VI 162
GRECO, Rosa	VI 086
GREGORINI, Eduardo	VI 012, VI 052
GRENON, Sandra	VI 072
GRISARO, Agustina	JU 180, JU 181, VI 197
GROISMAN, B.	MI 155
GROISMAN, Daiana	MI 095
GROSSO, Nelson Rubén	VI 026
GUALTIERI, Ariel Félix	VI 153
GUANGIROLI, Martina	VI 108
GUARDATI, María Cristina	MI 036
GUELFAND, Liliana	MI 011
GUELSSI DOS SANTOS, Matheus	VI 104
GUERRA DELGADO, Marco Sergio	MI 125
GUERRERO, Leandro D.	VI 124
GUERRERO ALVA, Dániza Mirtha	JU 183
GUEVARA NUÑEZ, Daiana	Oral MI 5
GUIDA, Nora	VI 139
GUILLAMÓN NAVARRO, José Manuel	VI 255
GUILLÉN, Rosa	MI 178
GUILLÉN FRETESA, Rosa M	JU 250
GUILLOT, Joaquín	SAMIGE MI 3
GUINZBURG, Dana	MI 095
GUITIÁN, María Virginia	MI 180
GUTIERREZ, Cesar Ernesto	VI 057
GUTIERREZ, Maximiliano	MI 117, VI 119
GUTIÉRREZ CACCIABUE, Dolores	MI 171, JU 170
GUTIERREZ VILLAFUERTE, Cesar Arturo	Oral MI 1
GUTKIND, Gabriel	JU 023, JU 024, JU 025, MI 027, JU 139, VI 009, VI 019, VI 024, VI 067, VI 138
GUYOT, Julieta	VI 160
GUYOT, Teresita	VI 068
GUZMAN, Glenda Mabel	JU 057
GUZMAN, Lucía Florencia	JU 036
GUZZETTI, Luciana	VI 097
HADDAD, Leila	MI 162
HAIM, María Sol	VI 035

HANKE, Silvina Elizabeth	MI 054, MI 163
HANSEN, Romina	JU 159
HANSMANN, David	MI 237
HAYASHI, Jennifer	VI 152
HECHT, Juan Pedro	VI 153
HECKER, Yanina Paola	MI 122
HEDEMANN, Gabriela	VI 250
HEGEL, Valeria Alejandra	JU 096, MI 227, VI 233
HEGER, Facundo	JU 054
HERMAN, Cristian	JU 223
HERNANDEZ, Claudia	MI 066, JU 010, JU 019, VI 042, VI 048
HERNÁNDEZ, Jorge	MI 108
HERNANDEZ, Luciana	JU 131
HERNANDEZ, Martin	SAMIGE VI 2
HERRERA, Fabián	MI 016, MI 080, VI 102
HERRERA, María Eugenia	VI 211
HERRERA, Mariana	VI 029, VI 140
HERRERA SEITZ, María Karina	JU 249, VI 241
HERRERO, Gabriela	MI 121
HERRERO, Rolando	VI 160
HEVIA, Alejandra	Oral JU 5, MI 089
HICKMAN, Rachel A.	VI 250
HIGHTON, Esmeralda	MI 066
HOLGADO, Pía	MI 161
HOLLMANN, Axel	VI 248
HORAK, Celina	VI 203
HOURQUESCOS, María Del Carmen	MI 044, MI 082
HOZBOR, Constanza	JU 204
HUARACHI, Sergio	VI 004
HUBER, María Paula	VI 190
HUBERMAN, Yosef Daniel	JU 129
HUERGO, Luciano	VI 252
HUERTA CANALES, Doris Virginia	Oral MI 1
HUGO, Gramajo	JU 251
HYNES, Erica	MI 223, JU 213
IANNONE, Leopoldo	Oral JU 5
IBAÑEZ, Lorena Itatí	JU 155
IBAR, Mariela	MI 012, VI 002
IBARGUREN, Carolina	MI 180
IBARRA, Cristina	MI 039, MI 233
IBARRA, Jose G	SAMIGE MI 1
IGLESIAS, Ayelen	JU 159
IGLESIAS, Azucena	MI 090, JU 009
IGLESIAS, Gabriel	VI 248
IGLESIAS, Martina	VI 161
IGLESIAS, Mónica	MI 077

IGLESIAS, Nestor Gabriel	JU 248
IMPA CONDORI, Anabel Rocio	JU 049
IMPERIALE, Belén Rocío	MI 074
IMPERIALE, Fernanda	JU 185
INCHAURRONDO, Joaquin	VI 254
INFANTE VARILLA, Stefany Fiorella	Oral MI 1, MI 030
IOVANNITTI, Cristina	VI 096
IRALA, Juan	MI 248
IRAZOQUI, José Matías	MI 256, VI 147
IRAZU, Lucía	JU 164
IRAZU, Lucia	VI 005
IRRAZÁBAL, Célica	JU 057
IRRAZABAL, Liliana Andrea	JU 079
IRURTIA, Maria Cecilia	MI 251
ISAAC, Paula	JU 126, JU 141, VI 136
ISHIGURO, Cristian	MI 218
ISLAN, German	JU 011, JU 012
ISTURIZ, Martín	JU 046
ITURRALDE, Esteban Tomás	MI 227, JU 096, JU 097
ITURRIAGA, Laura Beatriz	JU 032
IVANISSEVICH, Ana	MI 138, VI 146
JACKSON, Mary	VI 246
JACOB, Paulina	MI 124
JACOBY, Maria Del Rosario	MI 202
JACQUEZ, Oscar	VI 157
JAHOLA, Dóra	MI 191
JANCIC, Carolina Cristina	MI 233
JANJETIC, Mariana	JU 059
JATON, Juan	VI 162
JAUREGUIBERRY, Maria Virginia	JU 169
JIMENEZ PRIOR, Fátima	MI 221, VI 220
JIMÉNEZ-LEIVA, Andrea	JU 110
JOAQUIM, Patricia	VI 029, VI 140
JOHANSEN, Helle Krogh	VI 250
JORDÁ, Graciela Beatriz	MI 054, MI 163
JORDAN, Rosana	MI 089
JORDÃO, Mariana Nalesso	JU 184
JORGE, Laura	MI 016, VI 059
JORGE, Michelle L.	VI 022, VI 023
JOSE MARTIN, Scervino	VI 236
JUANIZ, Andrea	MI 021, MI 055
JUAREZ, Guillermo Esteban	MI 225
JUÁREZ TOMÁS, María Silvina	VI 202, VI 205
JUNCA, Howard	SAMIGE JU 3, JU 204
JUNCOSA, Florencia	MI 241
JURADO, Rosana	Oral JU 7

JURQUIZA, Veronica	JU 252
KACHUK, Analía Vanesa	VI 020
KASAS, Sandor	JU 229
KATZ, Nathalia	JU 161
KAWABATA, Aníbal	MI 248
KELLER, Leticia	MI 143, MI 144
KHAWAM, Jorge	JU 120
KIGUEN, Ana Ximena	JU 021, JU 064, VI 158
KISSAM, Gustavo	VI 084
KLEIN, Andres	VI 010, VI 018
KLEKAILO, Katya María Irina	MI 079, JU 079
KLEPP, Laura	JU 073
KOLMAN, Maria de Los Angeles	MI 116
KONIG, Guido	JU 129
KONIGHEIM, Brenda Salome	JU 021
KOROL, Sonia Edith	MI 179, JU 111, JU 207
KOS, Eliana	MI 082
KOSZCINCZUK, Patricia	MI 136
KOVACEC, Verónica	VI 034
KOWALJOW, Esteban	MI 099
KOZICKI, Graciela	MI 062
KOZICKY, Graciela	MI 021
KRIVOKAPICH, Silvio	MI 139
KRONBERG, Maria Florencia	MI 247, JU 001
KRÜGER, Alejandra	MI 244, JU 242
KRUMMEL, Lucía	JU 027
KUCHEN, Benjamin	MI 222, VI 194
KUHN, Hans	JU 142
KURZ, Ingrid	MI 007
LA ROSA, Luciana	VI 064
LA TORRE, Jose Leonardo	MI 144
LABARTHE, María Mercedes	JU 100
LACRUZ, Verónica	VI 068
LACZESKI, Margarita Ester	JU 098, VI 020
LADERA, Marla	VI 145
LADINES FAJA, Cesar Enrique	MI 030
LAGARES, Antonio	MI 250, JU 236, VI 110
LAGARES (JR.), Antonio	JU 241
LAHITTE, Matías	JU 055
LAMATTINA, Lorenzo	JU 100
LAMBIR JACOBO, Ana Judith	VI 026
LAMELZA, Florencia	MI 227, JU 096, VI 233
LAMMER, Mónica	JU 076
LANDOLT, Noelia	MI 124
LANFRANCONI, Mariana Patricia	MI 078, MI 114
LANZA, Natalia	VI 096

LARA, Andrea	JU 196, VI 177, VI 178
LARA, Claudia	MI 070, VI 063, VI 065, VI 074
LARA, Julia	JU 074
LARINI, Silvia	MI 004, VI 008
LARIO, Luciana	JU 099
LAROTONDA, Leticia Inés	JU 243
LARRABURU, Ezequiel	MI 094, VI 235, VI 238
LARZABAL, Mariano	MI 243, JU 127, JU 226, JU 254
LATORRE, Lucas Leonel	VI 242
LATORRE RAPELA, María Gabriela	VI 132
LAURA, Picolli	JU 247
LAURA ANALÍA, Mercado	MI 197
LAURENT, Franco Emanuel	MI 014
LAVAYÉN, Silvina	JU 255
LAVORATO, Pablo	Oral MI 5
LAZZARINI, Lorena	Oral VI 4, MI 141
LEDESMA, Ana Estela	JU 032, VI 039
LEDESMA, B.A.	MI 155
LEDESMA, Bibiana	JU 143, JU 144, JU 145
LEDESMA, Elizabeth	MI 052
LEDESMA, Martín	JU 029, JU 046
LEDESMA, Silvana Cecilia	VI 218
LEGARIA, María Cristina	JU 029, JU 054, VI 030, VI 075
LEGUINA, Ana Carolina Del V.	Oral VI 8, VI 128
LEGUIZAMÓN, Alejandro Javier	VI 221
LEGUIZAMON, Lorena	VI 072
LEGUIZAMÓN, Myrian	MI 248
LEHMANN, Karola	VI 245
LEIVA, Leonardo	JU 135
LEIVA, Maria Jose	VI 194
LEMA, Cristina	JU 162
LENCINAS, Marcos	JU 205, JU 208, JU 212, VI 214, VI 212
LENDEZ, Pamela	MI 127, JU 125
LEÓN, Ignacio E.	JU 012
LEON, Kristoffer	VI 152
LEÓN, Laura Beltina	JU 228
LEÓN AYALA, María Eugenia	MI 248
LEON PELÁEZ, Ángela	MI 130
LEONARDELLI, Florencia	JU 088
LEONINO, Patricia	MI 039, MI 251
LERENA, Maria Cecilia	MI 169, MI 184, MI 197, MI 198, MI 207
LERMAN TENENBAUM, Damian	VI 052
LEVIN, Laura	MI 166
LEVIS, Silvana	Oral JU 8, MI 150, JU 149
LEVIT, Romina	VI 175
LEXOU, Claudio	JU 112

LEYES, Salvador	JU 195, VI 001
LIMA, Nelson	MI 084
LIMANSKY, Adriana	MI 004, MI 031, MI 056, MI 255, JU 055, JU 237, VI 008, VI 012, VI 052, VI 258
LINNE, Uwe	JU 241
LIOTTA, Domingo Javier	JU 161
LIRES, Carla	JU 172, VI 203
LISOWIEC, Leandro Antonio	VI 244
LISSARRAGUE, Sabina	MI 041, JU 045
LITTERIO, Mirta	MI 063, MI 066, VI 030, VI 042, VI 048
LIU, Suni	JU 184
LIVIERI, Andrea Lourdes	SAMIGE VI 2
LLAUGER, Gabriela	JU 157
LLEBEILI, Yamila	MI 215
LLIMPE MITMA, Yesica	Oral MI 1
LLORENTE, Berta Elizabet	VI 235
LOAIZA, Natalia	MI 084
LOBO, Constanza Belén	VI 205
LOCASO, Delia Elisa	MI 014
LOCATELLI, Daniela	JU 178
LODEIRO, Anibal	MI 259, JU 096, JU 239, JU 240
LOMBARDO CARAMELLO, Andrea Elizabet	MI 229
LOMBARTE SERRAT, Andrea	Oral VI 7, JU 257
LONDERO, Alejandra	JU 128
LONGHI, Sara Jaquelina	Oral JU 3, JU 122
LONGHI, Silvia Andrea	JU 142
LOPARDO, Horacio	VI 034
LOPEZ, Ana Clara	VI 213, VI 237
LÓPEZ, Ana Claudia	MI 104
LOPEZ, Beatriz	VI 083
LOPEZ, Beatriz	Oral MI 8, JU 046, JU 078
LOPEZ, Diego	JU 195
LÓPEZ, Diego Guillermo	VI 001
LÓPEZ, Lorena	JU 052
LOPEZ, Nancy	SAMIGE MI 1, MI 202, JU 225, VI 247
LOPEZ, Nora	JU 155
LOPEZ, Oscar	VI 072
LOPEZ, Rocio de La Paz	SAMIGE JU 4, MI 210
LOPEZ, Silvia	JU 081
LOPEZ, Teresa	VI 101
LOPEZ ALZOGARAY, Soledad	MI 226
LOPEZ AQUINO, Deysi	VI 064
LÓPEZ DANERI, María	VI 096
LOPEZ DE ARMENTIA, Maria Milagros	MI 033
LOPEZ DE BLANC, Silvia	JU 064
LOPEZ DE CAILLOU, Maria Susana	VI 159
LÓPEZ GARCÍA, Silvina Laura	MI 227, VI 233

LÓPEZ GUERRA, Gabriela	JU 240
LÓPEZ JOFFRE, Cecilia	VI 089
LÓPEZ RIZO, María Carolina	JU 184, JU 200, VI 179, VI 180, VI 181
LOPEZ TORT, Fernando	MI 200
LOPEZ-JOFFRE, Maria Cecilia	JU 085, JU 086
LORCA, Cecilia Maria	MI 020
LORCH, Melani Gisele	SAMIGE JU 7
LORENZO LÓPEZ, Juan Ramiro	MI 244
LÖSCH, Liliana Silvina	MI 007, MI 115, JU 195, VI 001
LOSCH, Silvina Liliana	MI 042
LOTO, Flavia	JU 106
LOUGE URIARTE, Enrique Leopoldo	MI 137, JU 153
LOUND, Liliana Haideé	JU 065
LOUREIRO, Maria Eugenia	JU 155
LOVATTO, Vanesa A.	JU 192
LOVERA, Tania	JU 075, JU 076, JU 078
LOYEAU, Paula	VI 196
LOZA, Susana	MI 061
LOZADA, Inés	MI 133
LOZANO, Mauricio	JU 240
LOZANO-CALDERÓN, Laura	JU 154
LUCATELLI, Néstor Lucio	MI 162
LUCCA, Maria Ester	VI 222
LUCCHESI, Paula M. A.	MI 244, JU 242
LUCERO, Celeste	MI 003, MI 017, MI 019, MI 025, JU 007, JU 013, JU 016, JU 018, VI 003, VI 007, VI 017
LUCERO, Eliana Mailen	Oral VI 4
LUCERO, María Soledad	JU 157, VI 162
LUCERO ESTRADA, Cecilia	MI 258, JU 227
LUCHETTI, Abril	MI 231, VI 239, VI 240
LUCHI, Adriano Martin	MI 140
LUCINI, Enrique	SAMIGE JU 1, MI 096, MI 099, MI 206, JU 091, VI 026
LUCINI MAS, Agustín	VI 188
LUCKAZIEWICK, Adriana	JU 038
LUDEMANN, Vanesa	MI 189
LUIS, Franco	MI 208
LUNA, Carlos	JU 057
LUNA, María Flavia	JU 203
LUNA, Oscar Alberto	VI 163
LUNA, Paula	MI 086
LUNA, Rosa Daniela	MI 071
LUNA, Silvana	VI 059
LÚPORI, Jorgelina	JU 185
LUPPO, Victoria	Oral JU 8
LURÁ, María Cristina	VI 132
LUSTO, Jorge	JU 168
LUTZ, Larissa	MI 087, MI 088, JU 048, JU 082, VI 044

MAC CORMACK, Walter	JU 113, VI 128
MAC GANN, Miguel Ángel	MI 163
MACAGNO, Daniela	JU 087, VI 061
MACEDO, Daiana	JU 088, VI 099
MACHICADO, Erika	Oral JU 4
MACHINANDIARENA, Federico	VI 227
MACHUCA, Laura Marcela	MI 100
MACIAS, Erika	VI 156
MACÍN, Cristela Itatí	MI 007, VI 001
MACUA, Alicia Viviana	MI 121
MACZUGA, Juliana Maria	MI 181, MI 182
MADARIAGA, Lucas	SAMIGE JU 1
MADARIAGA, María Julia	MI 070, VI 074
MADEIRA, José V.	VI 184
MADRID ALBARRÁN, Yolanda	VI 182
MADUEÑO, Laura	JU 114
MAFFIA, Paulo Cesar	VI 037
MAGARIÑOS, Francisco	VI 019
MAGDALENO, Maria Alejandra	MI 251
MAGGI, Matias	MI 090, JU 009
MAGNOLI, Alejandra	VI 113, VI 142
MAGNOLI, Carina	VI 094, VI 111, VI 113
MAGNOLI, Karen	VI 094, VI 111
MAIDANA KULESZA, Maria Noel	JU 186, VI 133
MAIDANA KULESZA, Noel	MI 171
MAINETTI, Paula	JU 006, JU 042, JU 063
MAIO, Mariano	VI 081
MAITA, Renzo	VI 158
MAIZEL, Daniela	VI 015
MAIZTEGUI, Cynthia	VI 025, VI 056
MALDONADO, Ivana	MI 086, JU 005, VI 046
MALDONADO, Maria Laura	MI 063, MI 066, VI 030, VI 042, VI 048
MALDONADO, Nelly	MI 156
MALDONADO HARO, María Luisa	JU 094
MALENA, Rosana Claudia	JU 129
MAMY, Gisela	VI 069
MANDILE, Marcelo	MI 146, MI 157
MANFREDI, Eduardo	Oral MI 4, MI 068, JU 033, VI 066
MANGANELLO, Silvana	MI 061
MANGIONE, José Luis	JU 094
MANIAS, Valeria	JU 087, JU 247, VI 061
MANNA, Georgina	JU 023
MANSILLA, Cecilia	SAMIGE VI 1, SAMIGE VI 5
MANSILLA FERNÁNDEZ, Silvia Lorena	MI 136
MANTERO, Paula	JU 059
MANTOVANO, Julián	JU 024

MARANGI, Maria Julia	MI 098, MI 103
MARCHESE, Sofía	MI 092
MARCHESI OLID, Liliana	JU 059
MARCHESSI, Nicolas Carlos	MI 183
MARCHETTA, Nicolas	VI 257
MARCHETTI, Eliana	VI 085
MARCHFELDER, Anita	MI 260
MARCHIARO, Patricia	MI 004, JU 055, JU 237, VI 008, VI 012, VI 052
MARCIPAR, Ivan	VI 099
MARCONE, Débora N.	JU 160
MARCOS, Magalí	Oral VI 5, VI 129
MARCOS VALLE, Facundo	JU 187, VI 087, VI 093, VI 108,
MARELLI, Belkis Ester	VI 028
MARENGO, Rafael	JU 154
MARGUET, Emilio	JU 182
MARÍ, Raquel	MI 044, MI 045, MI 082
MARIANO, Grasselli	MI 157
MARIN, Emmanuel	VI 100
MARÍN, Héctor Marcelo	MI 042
MARIN, Maia	MI 135, MI 151
MARÍN FRANCO, José Luis	VI 081
MARIÑO, Betina	MI 124, JU 066
MARIOTTI, Yamila Ailén	VI 078
MARISCOTTI, Javier Fernando	SAMIGE VI 4, JU 238
MARONE, Silvia B	VI 074
MARONICHE, Guillermo	JU 100, JU 101, VI 107, VI 112, VI 232
MARQUES DA SILVA, Wanderson	MI 243, JU 226, JU 254
MARQUEZ, Maria Antonela	VI 169, VI 180, VI 181
MARRANZINO, Gabriela	VI 164
MARRERO, Marcela	JU 247
MARRERO DÍAZ DE VILLEGAS, Rubén	MI 192, JU 077
MARSON, Cristina	JU 064
MARTÍ, Enrique	Oral VI 3, JU 136
MARTIN, Fanny	JU 196
MARTIN, Mara	JU 103
MARTÍN, María Carolina	Oral JU 3, JU 122
MARTIN, María Laua	MI 150, JU 149
MARTÍN, María Lucía	MI 221, VI 220
MARTÍNEZ, Cecilia	VI 012
MARTÍNEZ, Claudia	MI 072, VI 047, VI 055, VI 130
MARTINEZ, Federico	MI 033, MI 043
MARTÍNEZ, Fernando Gabriel	VI 182
MARTINEZ, Gisela	VI 047, VI 130
MARTINEZ, Gustavo	VI 074
MARTÍNEZ, Karina Dafne	SAMIGE VI 7
MARTINEZ, Leila	JU 162

MARTÍNEZ, Liliana	JU 124
MARTINEZ, Maria Carolina	JU 037
MARTÍNEZ, María Inés	MI 048
MARTÍNEZ, María Laura	MI 203
MARTÍNEZ, María Pía	VI 177, VI 178
MARTÍNEZ, Melina	VI 037
MARTINEZ, Mónica	VI 072
MARTINEZ, Sergio	MI 094
MARTÍNEZ, Sergio Javier	VI 238
MARTINEZ, Valeria Paula	JU 159
MARTINEZ ALVAREZ, Lady Caterine	MI 005
MARTINEZ CUESTA, Lucia	MI 127, JU 125
MARTÍNEZ LUQUE, Luciana	VI 026
MARTINEZ MORA, Mario	MI 065
MARTÍNEZ-GUARNEROS, José Armando	MI 076
MARTINICH, Carina	MI 044, MI 045, MI 082
MARTINO, Florencia	MI 018
MARTINS PORTELINHA FILHO, Alexandre	VI 104
MARTORELLI, Luisina	MI 038
MARUCCI, Patricia Liliana	VI 260
MARZI, Sabrina Anabel	MI 046, JU 003, JU 034, JU 041, JU 174, JU 175
MARZOCCA, María Alejandra	JU 168
MAS, Javier	JU 139, VI 138
MASOTTI, Fiorella	JU 119
MASSA, Rosana	VI 066
MASSÓ, Mariana	VI 014
MASSON, Candela	JU 228, JU 229
MASTROIANNI, Alejandra	JU 010, VI 048
MASUELLI, Martín Alberto	VI 215
MATTEO, Mario	Oral MI 8, MI 074, MI 075, VI 083
MATURANO, Paola	JU 205, VI 214
MAUAS, Pablo Jacobo David	VI 015
MAYDANA, Mara	MI 252
MAZA, Debora Daniela	VI 255
MAZZA, Mariana	MI 081, JU 080, JU 085, VI 080
MAZZINI, Rubén	MI 124
MBAYED, Viviana	MI 002, JU 163, VI 126
MCATEER, Sean	VI 228
MCCLELLAND, Michael	Oral VI 1
MECHAN AYALA, Graciela Edita	JU 177
MEDEOT, Romina	MI 058
MEDINA, Emilce Mariel	JU 232, SAMIGE MI 2
MEDINA, Marcela Susana	MI 142, VI 159
MEDINA, Marcelo Gabriel	MI 115
MEDINA, Marina Soledad	MI 158
MEDINA, Roxana Beatriz	JU 200, VI 170, VI 171, VI 179, VI 180, VI 181

MEGUMI YAMAUCHI LIONI, Lucy	VI 058
MEISS, Roberto	JU 027
MELAMED, Celia	JU 188
MELANO, Roberto	Oral MI 2, MI 047
MELGAR, Asunta	JU 036
MELIAN, Sofia	JU 029
MELITO, Graciela Sandra	JU 176
MÉNDEZ, Beatriz	MI 219
MENDEZ, María Alejandra	JU 004
MENDEZ CABALLERO, Erika	VI 073
MENDOSA, Maria Alejandra	JU 087, VI 061
MENDOZA, Julián Ignacio	SAMIGE JU 2
MENDOZA, Lucía M.	VI 217
MENDOZA PUGA, Luis Enrique	VI 131
MENENDEZ HELMAN, Renata	SAMIGE MI 1
MENGUCCI, Florencia	MI 259, JU 239, JU 240, VI 233
MENOCAL, Alejandra	MI 003, MI 017, MI 019, MI 025, JU 007, JU 013, JU 016, JU 018, VI 003, VI 007, VI 016, VI 017
MERCADO, Laura	MI 169, MI 170, MI 184, MI 185, MI 195, MI 196, MI 198, MI 207
MERCANTI, Diego	MI 167
MERELES RODRIGUEZ, Beda Elizabeth	JU 022, VI 010, VI 018
MERILES, José Manuel	MI 099
MERILES, Juan Marcelo	MI 049
MERÍN, María Gabriela	MI 186
MERINO, Lina	MI 187
MERINO, Luis Antonio	MI 007, MI 115, VI 001
MERKER BREYER, Gabriela	MI 107
MERKT, Mariela	VI 056, VI 025
MERLO, Carolina	SAMIGE JU 1, MI 096, MI 099, MI 206
MESA, Socorro	JU 110
MESA ARANGO, Ana Cecilia	MI 084, JU 083
MESPLET, María	VI 096, VI 139
MESSINA, Fernando	MI 085
MESSUTI, María Inés	VI 236
MESTRE, Maria Victoria	MI 222, VI 194
MESTRE, Mariana	JU 148
METZ, Germán	MI 133, MI 152
MEZZINA, Mariela	SAMIGE VI 8, SAMIGE VI 7, JU 214
MICHAUT, Marcela Alejandra	JU 193
MICHELETTI, Melisa María	MI 148
MICHELINI, Flavia	SAMIGE VI 7
MICUCCI, Matias	Oral JU 7
MIGUEL, Candela	MI 051
MILDE, Laura	VI 243
MILIWEBSKY, Elizabeth	Oral MI 4, MI 068, JU 033, VI 066
MILLARA, Monica	JU 020, JU 084
MINASSIAN, Maria Laura	VI 161

MINETTI, María Del Carmen	VI 158
MINGORANCE, Santiago Emmanuel	JU 188
MINNAARD, Jessica	VI 183, VI 231
MIÑO, Gastón Leonardo	MI 188
MIÑO, Maria Laura	VI 165, VI 166
MIÑO, Orlando Samuel	JU 134, VI 150
MIRANDA, Cristina	JU 043
MIRANDA AVILES, Raúl	VI 131
MISTCHENKO, Alicia	VI 157, VI 163
MITTON, Giulia	MI 090
MIYAGUSKU, Luciana	JU 184
MIYAZAKI, Silvia Susana	JU 231
MOAVRO, Alfonsina	MI 189
MOBILI, Pablo	VI 183
MOBILIA, Liliana	JU 047, JU 053
MOGRO, Ezequiel Gerardo	MI 253
MOHAMED, María Florencia	MI 220, JU 215
MOIRAGHI, Malena	VI 189
MOJSIEJCZUK, Laura Noelia	VI 150
MOLIN, Soeren	VI 250
MOLINA, Guido Nicolás	Oral JU 1, VI 148
MOLINA, Melisa Antonella	VI 243
MOLINA, Nora	MI 041
MOLINA, Viviana	VI 078
MOLINARI, Cesar	VI 071
MOLINARI, María Paula	VI 148
MOLIVA, Melina	JU 072, JU 137
MOLLERACH, Marta	VI 034, VI 035
MON, Maria Laura	JU 127
MONCECCHI, Laura	JU 037
MONDINO, Eduardo	JU 101
MONGE, Maria Del Pilar	VI 113, VI 142
MONGE, Renata	JU 040, JU 049, VI 043
MONGELAT, Sandra	MI 172, MI 177
MONGELOS, Guillermo	MI 175
MONGI, Simon	MI 190
MONGIARDINI, Elias	MI 259, JU 239, JU 240
MONTAÑA, Sabrina	MI 047, VI 071
MONTAÑEZ, Johanna	MI 032
MONTAÑEZ-CULMA, Johanna	VI 228
MONTBRUN, María Del Carmen	JU 193
MONTEAVARO, Cristina	JU 131
MONTENEGRO, Graciela	MI 251
MONTERO, David	JU 197
MONTERO, Gabriela	JU 185, JU 189
MONTESERIN, Johana	Oral MI 8, MI 075, JU 046, VI 083

MONTIBELLO, Silvia	MI 011
MONTILLA CORREDERA, Antonia	VI 174
MONTOTO, Mariana	JU 020, JU 084
MONTOYA, Julieta	VI 157
MONTOYA GOMEZ, Yuliana	JU 083
MOORE, Karen	JU 154
MORACHO, Lucila	MI 074
MORALES, Juan Carlos	MI 252
MORALES, María Alejandra	Oral JU 8, MI 150, MI 155
MORALES, Maria Del Carmen	JU 247
MORALES, María Rosa	MI 199
MORALES, Sandra	VI 072
MORÁN, Pedro	VI 145
MORANDO, Nicolas	JU 036
MORAÑA, Eduardo José	VI 081
MORATA DE AMBROSINI, Vilma Inés	Oral JU 3, MI 186, JU 122
MORCILLO, Nora	MI 074
MOREDO, Fabiana Alicia	MI 002, MI 015
MORELLATO, Agustín Ezequiel	JU 235
MORELLI, Irma Susana	JU 114
MORENO, Andrea	VI 158
MORENO, Griselda	MI 146
MORENO, Silvia	MI 208, MI 209
MORENO MARTÍN, Gustavo	VI 182
MORETTI, Ana Florencia	MI 130
MORETTON, Juan	JU 024
MOREY HERRERA, Jesica Elizabeth	MI 059
MORILLAS, Analia Mariel	MI 048
MORIS DE OLIVEIRA, Daniela Vanessa	VI 104
MORONI, Mirian	MI 012, JU 051, JU 252, VI 062
MORRELL, Eleonora L.	MI 137
MORRELL, Eleonora Lidia	MI 122
MORSELLA, Claudia	VI 251, MI 256
MOSCOLONI, M.A	MI 060, VI 041
MOSMANN, Jessica Paola	JU 021, JU 064, VI 158
MOSQUERA, María Silena	MI 007, MI 115
MOTTER, Andrea Nora	JU 085, VI 089
MOYANO, Alejandro	MI 241
MOYANO, Damian	JU 129
MOYANO, Mailen	JU 188
MOYANO, Martina	VI 225
MOYANO, Roberto Damian	VI 084
MOZGOVOJ, Marina	MI 200, MI 245, JU 173, JU 194
MOZZI, Fernanda	MI 220, JU 215, VI 182
MUCCI, Sofía	MI 035
MUCHIUTTI, Gabriela S.	JU 192

MUGAS, Maria Laura	JU 021
MUJICA, Lucrecia	VI 025, VI 056
MUJICA, Maria Teresa	MI 080
MULLEN, Eduardo	MI 162
MUNARRIZ, Eliana	MI 247, JU 001
MUNICOY, Julieta	JU 203
MUNILLA LACASA, Bernardita	MI 138, VI 146
MUÑOZ, Alejandra	MI 138, VI 139, VI 146
MUÑOZ, Federico	JU 174, JU 175
MUÑOZ, Gisela	VI 098
MUÑOZ, Manuel	JU 230
MURA, Stella	MI 021, MI 055
MURCIA, Marcos Germán	VI 122
MURIALDO, Silvia	SAMIGE JU 3, JU 204
MUSSIN, Javier	MI 024, VI 086
MUSSIO, Maira Magalí	MI 048
MUTTERS, Nico T.	MI 244, JU 242
MUTTI, María Virginia	MI 063
MUZIO, Federico Matías	MI 204
MUZLERA, Andrés	JU 233
MUZZIO, Antonella	MI 175
MYKIETIUK, Analia	Oral JU 4
NABAES JODAR, Mercedes	VI 163
NACCHIO, Bárbara Luciana	VI 170, VI 171
NAGAI, Minako	MI 248
NAGEL, Alicia	JU 087, VI 061
NAGEL, Ariel	MI 254
NAKASATO, Gerson	VI 058
NALLY, Cristina	JU 205, JU 208, JU 212, VI 204, VI 212, VI 214
NALLY, Maria Cristina	VI 194
NANNINI, Esteban	JU 055
NAPOLI, Daniela	MI 060, VI 016, VI 041
NAPOLITANO, Nicolás	JU 113
NARDELLO, Andrea Liv	JU 193
NARDÍN, María Elena	JU 087, VI 061
NASTRO, Marcela	Oral MI 7, JU 057, JU 054
NATALIE, Weiler	MI 065
NAVARRO, Agustín	JU 219
NAVARRO, Alvaro Martin	VI 210, VI 255
NAVAS, Laura	MI 166
NAVAS KALUZA, María Daniela	SAMIGE MI 2, JU 232
NECHESNY, Gabriela	VI 010
NECHESNY KISZKO, Olga Gabriela	VI 018
NEDIANI, Miriam Teresa	JU 068, JU 190
NEGRO, Antonio	MI 168
NEGRONI, Ricardo	MI 085

NEIMAROVSKY, Corina	JU 055
NELSON, Hurtado	MI 208
NEME, Héctor	MI 226
NESCI, Andrea	VI 105
NEUMANN, Boris	VI 245
NICHEA, Maria Julia	VI 091
NICKELS, Noelia	VI 069
NICOLA, Federico	MI 016, VI 054
NIETO FARIAS, Maria Victoria	MI 127, JU 125, JU 130, VI 145
NIETO PEÑALVER, Carlos Gabriel	Oral VI 8, MI 230, VI 128
NIEVA MURATORE, Luciana	JU 234
NIEVAS, Fiorela Lujan	MI 101, MI 240
NIEVAS, Jimena	VI 054
NIEVAS, Victorio Fabio	MI 002, MI 012, MI 015, VI 002
NIGRO, Monica	MI 155, JU 143, JU 144, JU 145
NIKEL, Pablo Ivan	MI 247
NILSSON, Juliet	MI 231, VI 239, VI 240
NISENBAUM, Melina	SAMIGE JU 3, JU 204
NOCERA, Ruben	JU 044
NOGUEIRAS, Juan Pablo	MI 152
NORIEGA LUNA, Berenice	VI 131
NORONHA ARECHAVALETA, Nathasha	MI 107
NOSEDA, Diego	JU 123
NOTARISTÉFANO, Guillermo	JU 052
NOTO LLANA, Mariangeles	Oral VI 2, JU 027, JU 028
NOVOSAK, Marina Gisel	VI 020
NUÑEZ, Gisela Veronica	JU 061
NUÑEZ, Lidia	JU 024
NÚÑEZ, María Rosa	JU 015, JU 043, VI 068
NUÑEZ MONTOYA, Susana	JU 021
NÚÑEZ TORRES, Darwin	MI 022, MI 165
NUSBLAT, Leonora	MI 070
NUSKE, Ezequiel	JU 139, VI 138
OBERLANDER, María Virginia	JU 190
OCAMPO, Aylen	JU 091
OCHIUZZI, Maria Eugenia	VI 100
ODDI, Sofía Lorena	VI 190
ODDINO, Claudio	JU 107
ODEÓN, Anselmo	MI 135, JU 153
ODERIZ, Sebastian	MI 252
OJEDA, Pablo Alejandro	JU 166, VI 116
OLGUIN, Nair Tamis	JU 248
OLIVELLI, Melisa	MI 218
OLIVERA, Nelda	Oral VI 5, VI 129
OLIVERO, Carolina	JU 132, JU 199
OLIVIERI, Gabriela	MI 212, VI 211

OLMEDO, Gladys	MI 156
ONCO, María Inés	MI 097, JU 102
ONTAÑON, Ornella	MI 118, MI 191, MI 192, JU 124
ORCELLET, Viviana	JU 154
ORDOÑEZ, Alicia	JU 196
ORDÓÑEZ, Maria Victoria	VI 254
ORDOÑEZ, Omar Federico	JU 259
ORECCHINI, Alejandra	MI 052
ORELLA, Gustavo	VI 029
ORELLANA, Esteban	VI 124
ORELLANO, Elena Graciela	MI 203
ORELLANO, María Soledad	JU 141, VI 136
ORIANI, Alejandra Soledad	JU 168
ORIGLIA, Javier	MI 133
ORIGLIA, Javier A	MI 070
ORLANDI BARTH, Patricia	MI 087, MI 088, JU 048, JU 082, VI 044
OROZCO, Anabella Abril	JU 193
ORREGO MIRANDA, Maria Veronica	MI 065
ORTEGA, Emanuel	JU 146
ORTEGA, Gabriela	MI 229
ORTEGA, Hugo Héctor	VI 028
ORTEGA, Margarita Mariela	MI 013
ORTEGA FLORES, Dan Tania	VI 074
ORTELLADO, Laura Ester	VI 244
ORTIZ, Claudia	MI 005
ORTIZ, Jimena	MI 238
ORTIZ, Orieta	JU 105, JU 117, VI 117
ORTIZ, Susana	VI 069
ORTIZ, Xoana	MI 134, VI 116
ORTIZ ALMANZA, Juan Simón	VI 121
ORTIZ CHURRA, Abimael	VI 147
OSELLA, Carlos Alberto	JU 121
OSPINA MATEUS, Laura	MI 208
OTAROLA, Eliana Marisel	MI 158
OTEGUI MARES, Lucio Oscar	VI 161
OTEIZA, Juan	JU 169, JU 170
OTERO, Ignacio	VI 148
OTT, Melanie	VI 152
OTTADO, Jorgelina	JU 119, JU 245, VI 207, VI 249,
OTTAVIANO, Sergio	MI 051
OVEJERO, César Antonio	MI 149
OVIEDO, Claudia	JU 014
OVIEDO, Patricia Noemí	VI 020
OYHAMBURU, José María	MI 158
PACHADO, Jose	VI 203
PACIN, Ana María	VI 087, VI 093

PADÍN, Valeria Mariel	VI 160
PADOLA, Nora Lia	MI 039, JU 045, JU 130, JU 250, JU 255, VI 173
PAESANI, Candela	VI 189
PÁEZ, Laura Camila	VI 014
PAEZ, María Daniela	MI 257, JU 115
PAEZ, Paulina	MI 258, JU 227, VI 079, VI 224, VI 226, VI 229, VI 230
PÁEZ, Paulina L.	SAMIGE JU 5, MI 228
PAGANINI, Julian	MI 255
PAGGI, Roberto	MI 232, VI 242
PAGLIERE, Horacio	VI 146
PAGNUSSAT, Luciana Anabella	JU 093, VI 232
PAJOT, Hipólito Fernando	Oral VI 8, VI 210, VI 223
PALACIO, Belén	MI 052
PALACIOS, Gustavo	JU 159
PALACIOS, Sofia	VI 114
PALACIOS, Sofía	MI 211
PALACIOS, Sofia A.	VI 115
PALAVECINO PRPICH, Noelia	MI 216
PALAZON, Eliana Gisel	MI 142, VI 159
PALAZZINI, Juan Manuel	MI 211, JU 198
PALERMO, Marina	MI 032, JU 044, JU 230, VI 228
PALERMO, Tamara	MI 235, MI 261
PALERO, Santiago	MI 196
PALLARES, Sabrina	VI 010
PALMERO, Domingo	MI 074, VI 081
PALOMINO, María Mercedes	SAMIGE VI 3, VI 168
PALUMBO, Miranda Clara	SAMIGE VI 3, VI 168
PANAGÓPULO, Marcela	JU 252, JU 051, VI 046, VI 062
PANDO, María de Los Ángeles	JU 036
PANDOLFI, Julieta	Oral VI 1
PANTOZZI, Florencia	MI 012, VI 002
PAOLICCHI, Fernando	MI 122, MI 256, VI 251
PARAFIENIUK, Sergio Ariel	MI 054
PARAJE, M. Gabriela	VI 224, VI 226
PARAJE, María Gabriela	SAMIGE JU 5, MI 228, MI 229, VI 079, VI 229, VI 230
PARDINI, Lais	JU 145
PARDO, Alejandro Guillermo	MI 098, MI 103, VI 123
PARDON, Fabian	Oral JU 4, VI 156
PAREDES, María Silvina	MI 129
PAREJO, Sergio	JU 110
PARISE, Alejandro Ruben	VI 206
PARMA, Yanil R.	MI 244
PARMECIANO DI NOTO, Gisela	VI 256
PAROLDI, Héctor Emilio	SAMIGE MI 2, JU 232
PARREÑO, Gladys Viviana	JU 157
PARREÑO, Viviana	MI 200

PARSONS, Graciela	MI 037, MI 001
PASCAL, Diego	JU 135
PASCAL, Stefanía	MI 244
PASCANER, Sara	MI 021, MI 055
PASCUA, Julia	JU 005
PASCUAL, Liliana	JU 138, VI 187
PASINOVICH, Marina	JU 162
PASQUEVICH, Karina	Oral VI 1
PASSALACQUA, Nancy	MI 121
PASSONE, Maria Alejandra	JU 089, VI 105
PASTERAN, Fernando	Oral MI 2, Oral MI 3, MI 003, MI 017, MI 019, MI 025, JU 002, JU 007, JU 008, JU 013, JU 016, JU 018, JU 237, VI 003, VI 007, VI 017
PASTOR, Maria Alejandra	JU 116, VI 259
PASTOR, Nicolas	JU 107, VI 114
PATRIARCA, Andrea	JU 094, JU 095, JU 191
PAUL, Roxana	Oral MI 8, JU 046, JU 078, VI 083
PAULO MOREIRA, Joao	VI 152
PAULÓN, Florencia Geraldina	JU 062, JU 121
PAVICICH, María Agustina	JU 191
PAZ, María Mercedes	JU 190
PAZ, Natalí	JU 038
PAZ, Verónica	MI 050
PEDETTA, Andrea	VI 254
PEDROZO, Paula	JU 205, JU 208, JU 212, VI 204, VI 212, VI 214,
PEGA, Juan Franco	VI 168
PEGELS, Eduardo Raúl	VI 020
PEIRANO, Marcelo	JU 084
PELLEGRINI, María Celeste	MI 006, MI 109
PELLIZZARI, Esther Edith	MI 201
PELOC, Carolina Emilce	VI 071
PENCHANSKY, Veronica	VI 078
PENDON, María Dolores	VI 184
PENNINI, Magdalena	MI 047, VI 025, VI 056
PEÑA, Gabriela Lorena	VI 045
PERA, Licia	JU 104, JU 106, JU 219
PERALTA, Andrea	JU 022, JU 154
PERALTA, Guillermo	MI 223, JU 213
PERALTA, Mariana Andrea	MI 229
PERAZZI, Beatriz Elizabeth	JU 057
PEREIRA, Claudia Elizabeth	JU 182
PEREIRA DE MEDEIROS, Vanise	JU 118
PERESSUTTI, Silvia R	JU 204
PEREYRA, Adriana	MI 039, MI 251
PEREYRA, Ana	VI 030
PEREYRA, Anabela	MI 186
PEREYRA, Claudia Mariela	MI 163
PEREYRA, Elizabet Amanda Lorena	MI 128, VI 134

PEREYRA, Elsa	VI 069
PEREYRA, Susana Beatriz	JU 153
PÉREZ, Adrián Alejandro	MI 014
PÉREZ, Celeste	MI 070, MI 071
PEREZ, Fernando	MI 064
PÉREZ, Gabriela	VI 042, VI 189
PEREZ, Germán Roberto	MI 036
PEREZ, Guadalupe	JU 010
PÉREZ, Jonás	JU 093
PEREZ, Jorgelina	MI 004, VI 008
PÉREZ, Marcela	VI 053
PÉREZ, Melisa	MI 097, JU 102
PÉREZ, Oscar	Oral JU 7, SAMIGE VI 7
PÉREZ, Pablo Fernando	VI 038, VI 183, VI 231
PEREZ, Sandra	MI 151
PÉREZ, Sandra	MI 135, JU 153
PÉREZ CATALÁN, Sebastian	VI 053
PEREZ CHAIA, Adriana	JU 140, JU 184, JU 201, VI179
PEREZ ESPINOSA, Maximiliano	MI 095
PÉREZ GIMÉNEZ, Julieta	JU 096, JU 097
PEREZ MERELLO, Mercedes	VI 011
PEREZ PEÑA, Jorge	MI 170
PÉREZ TORRADO, Roberto	MI 198
PEREZ-LAGO, Laura	VI 083
PEREZ-SAUTU, Unai	JU 159
PERFUMO, Carlos	MI 012
PERI IBÁÑEZ, Estefanía Soledad	MI 146, MI 157
PERIOLO, Natalia	JU 159
PERTINO, Mariano Walter	JU 152
PERUCHENA, Nélida María	MI 140
PESCE, Virginia	JU 205, JU 208, JU 212, VI 214, VI 204, VI 212
PESCIO, Adriana	MI 050, MI 057
PESCUMA, Micaela	MI 176, VI 182
PESSI, Carla	VI 076
PETRAS, Daniel	MI 241
PETRERA, Erina	JU 070, JU 152
PETRINA, Juan Facundo	VI 141
PETRONI, Alejandro	MI 018
PETROSELLI, Gabriela	VI 004
PETTINARI, Maria Julia	SAMIGE VI 7, SAMIGE VI 8, MI 219, JU 214
PEZZONI, Magdalena	MI 224, JU 224
PIACENZA, Laura	VI 056
PIAGGIO, Mercedes Carolina	JU 065, JU 192
PIAZZA, Ainelén	VI 249
PIAZZA, Ainelen	VI 207
PICCARDO, Victoria	VI 116

PICCINI, Luana	Oral JU 6, VI 155
PICCINNI, Florencia Elizabeth	MI 192
PICCONI, María Alejandra	MI 160, JU 161, JU 163, JU 164, VI 160
PIEDRABUENA, Maria de Los Milagros	JU 047, JU 053
PIERANGELI, Nora	Oral VI 4, MI 141
PIETRANTONIO, Adriana Mónica	MI 162
PIETRO, Mónica	JU 039
PIN VISO, Natalia	MI 018
PINEDA, Gonzalo	MI 032, JU 230, VI 228
PINO, Adriana	MI 051
PINTO, Silvina	VI 162
PINTO VITORINO, Graciela	VI 013
PIÑERO, Ricardo	JU 039
PIQUERAS, Cristian Martín	VI 192
PIRAJAN, Daniela	MI 035
PIRES, Julia Maria	JU 041
PIRES MACHADO, Denise	MI 087, MI 088, JU 048, VI 044
PIROLA, Silvana Inés	MI 128, VI 134
PISTORIO, Mariano	MI 231, JU 203, VI 239, VI 240
PITTET, Claudio	MI 021, MI 055
PIZARRO, Marcela	JU 179, JU 193
PIZARRO, Pedro	JU 064
PIZARRO, Ramon A	MI 224, JU 224
PIZZOLITTO, Romina	SAMIGE JU 1
PODESTA, Maria Virginia	MI 083, JU 081
POETSCH, Ansgar	MI 232
POKLEPOVICH, Tomas	Oral MI 4, MI 075, JU 014
POKLÉPOVICH CARIDE, Tomás	VI 062
POL, Melina	Oral VI 1
POLA, Santiago	VI 096
POLITO, Franco Santiago	MI 230
POLITO, María Laura	MI 072
POLIZZI, Paula	VI 143
POMA, Hugo Ramiro	MI 171, JU 186, VI 127, VI 133
PONCE, Alejandra	MI 006, MI 109
PONCE, Angelica	JU 205
PONSONE, Lorena	MI 207, JU 206
PONTARELLI, Fiorela	JU 066
PONTIGGIA, Rodrigo	SAMIGE MI 3
PONTONI, Andrés	JU 188
PONTORIERO, Andrea	Oral JU 4, VI 156
POO, Juan Ignacio	VI 143
PORPORATTO, Carina	JU 126, JU 141, VI 136
POSE, Graciela Noemí	MI 098, MI 103, VI 109, VI 123
POSSE, Gladys	JU 081
POWER, Pablo	JU 023, JU 024, VI 126

PRATI, Fabio	JU 023
PRECIADO, Maria Victoria	MI 162
PREDARI, Silvia	VI 030
PRENDES, Luciana Paola	MI 186
PRESTIFILIPPO, Ana María	JU 047, JU 053
PREZ, Verónica	JU 170
PREZOUTTO VENÂNCIO, Nathalia	VI 104
PRIETO, Carla Soledad	VI 101
PRIETO, Jorge Alejandro	MI 170
PRIETO, Karla	JU 159
PRIETO, María Cecilia	MI 099, VI 026
PRIETO, Monica Alejandra	MI 063, MI 072, VI 047, VI 053, VI 055, VI 130
PRIETO, Natalia	JU 052
PRINCIPE, Francisco	JU 172
PROSDÓCIMO, Florencia Maria	MI 132, MI 134
PROVSAG, Arg	JU 014, VI 005
PRZEWOZNIAK, Eliza	MI 191
PUCCI, Graciela	MI 117, VI 119
PUCCIARELLI, Amada Beatriz	MI 174, MI 175
PUIG, Gabriela	MI 045
PUJATO, Nazarena	MI 124
PUJATO, Silvina	MI 167
PUNTILLO, Melisa	VI 195
PURICELLI, Marino	JU 187
PUTZOLU, Karina	Oral MI 4, JU 033, JU 044, VI 066
PUY Y ALQUIZA, María Jesús	VI 131
QUELAS, Juan Ignacio	MI 259, JU 239, JU 240
QUEROL, Amparo	MI 198
QUIBERONI, Andrea	MI 167, MI 168, JU 062, JU 121
QUINTANA, Francisco	MI 153
QUINTANA, Karina Verónica	MI 054
QUINTERO GARCÍA, Omar	JU 124
QUINTEROS, Melisa	SAMIGE JU 5, MI 228, VI 226, VI 230
QUIROGA, Cecilia	MI 035, JU 026, JU 113, VI 256
QUIROGA, Ezequiel	MI 034
QUIROGA, Florencia	MI 154
QUIROGA, María	JU 140, JU 184, JU 201
QUIROGA, María Paula	JU 030, VI 014, VI 033, VI 125
QUIROGA, Marina Inés	VI 020
QUIROZ, Jaime	JU 105, VI 117
RABINO, Agustin	MI 232
RABINO, Daniel	JU 193, JU 196
RABINOVICH, Daniel	JU 036
RACERO, Laura	MI 061
RADICE, Marcela	VI 019
RADIO BRANDONI, Pedro	JU 092

RADMAN, Nilda	JU 146
RAGO, Lucía	VI 035
RAIDEN, Silvina	MI 161
RAIGER IUSTMAN, Laura J.	SAMIGE MI 1, MI 202
RAJAL, Veronica	MI 173
RAJAL, Verónica	MI 171, JU 170, JU 186, VI 127, VI 133
RAMÍREZ, Carolina	MI 093
RAMIREZ, Cristina	MI 090, JU 009
RAMIREZ, María Laura	MI 186, VI 091, VI 186
RAMIREZ, Maria Soledad	MI 047, VI 033, VI 071
RAMIREZ ALBUQUERQUE, Lady Diana	JU 095
RAMIS, Lila	JU 253
RAMÓN CURAY, Riveliño	MI 022, MI 165
RAMOS, Claudia	JU 087, VI 061
RAMOS, María Victoria	MI 032, JU 230, VI 228
RAMOS APABLAZA, Michael Francisco	VI 123
RAMOS PASSARELLO, Germán	VI 256
RAMPULLA, Santiago Sebastian	MI 251
RAPISARDI, María Florencia	JU 164
RAPOPORT, Melina	Oral MI 2, MI 019, MI 025, JU 002, JU 008, VI 003
RASIA, Rodolfo	SAMIGE VI 4
RASPANTI, Claudia Gabriela	JU 126
RATICELLI, Fabricio	JU 134
RAYA, Raúl Ricardo	MI 220, JU 215, VI 217
RAZZOLINI, Maria Tereza P.	VI 022, VI 023
RÉ, María Florencia	SAMIGE VI 5
RE, Micaela	MI 236
REARTE, Andrés	MI 016, VI 102
REARTE, Barbará	JU 046
REBAGLIATI, Juan Daniel	VI 012, VI 052
RECALDE, Hugo Cesar	MI 077
RECCE, Sebastián	JU 154
REDERSDORFF, Ingrid	JU 249
REDONDO, Leandro	VI 135
REFOJO, Nicolás	Oral JU 5, MI 081, JU 080, VI 080
REGGIANE, Silvia	VI 040
REGUEIRA, Mabel	MI 060, VI 016, VI 041, VI 063
REIJTMAN, Vanesa	JU 010, JU 078, VI 048
REINHEIMER, Jorge Alberto	JU 220, VI 167, VI 190, VI 195, VI 196
REINOSO, Elina	JU 072, JU 137
RELLOSO, Silvia	MI 080, VI 059, VI 102
RENGIFO, Marcos	MI 193
RENNA, María	MI 123, MI 128, VI 134
REPETTO, Silvia	JU 148
REPIZO, Guillermo Daniel	MI 255, JU 258, VI 258
RETAMAR, Celeste	MI 223

REY, Jorge	JU 148
REY, María de Los Ángeles	MI 245, JU 194
REYES, Nahir Daniela Anahi	VI 045
REYES, Noelia Soledad	JU 160
REYES, Sarita	VI 127, VI 133
REYES FARIAS, Carlos Ignacio	MI 030
REYNOSO, Cristian	VI 116
REYNOSO, Maria	VI 114
RIAL, Clara	VI 143
RIAL, Daniela V.	VI 219
RIBEIRO, Isabella	VI 022, VI 023
RICARTE, Carmen	JU 160
RICCARDO, Laura	VI 116
RICHETTA, Matías	VI 162
RIERA, Laura	MI 147
RIGAZIO, Cristina	JU 090
RIGAZZIO, Cristina	MI 092
RIMA, Alejjandra	VI 074
RINAUDO, Mariángel	JU 055, JU 147, VI 052, VI 012
RIOS, Daniela Alejandra	MI 162
RIQUELME, Jesica	MI 196
RISELI, Virginia	VI 025
RITA, Armitano	VI 083
RITTACO, Viviana	Oral MI 8, MI 075, VI 083
RIVAS, Gabriel Alejandro	JU 244
RIVAS, María Cristina	MI 081, VI 080
RIVAS, Marta	Oral MI 4, VI 066
RIVERA, Juan Manuel	JU 187
RIVERO, Karina Andrea	VI 078
RIVERO, Luciana Del Valle	MI 194, MI 199
RIVIERE, Nahuel	MI 243, JU 226, JU 254
ROBERTO, Grau	VI 199
ROBLES, Gabriel	VI 164
ROCCA, Diamela María	MI 067, MI 120
ROCCA, María Florencia	MI 068, VI 040, VI 047, VI 053, VI 055
RODRIGUES, Fabio	JU 118
RODRIGUES AQUINO, Valerio	MI 087, MI 088, JU 048, JU 082, VI 044
RODRIGUEZ, Ailen Natali	JU 249
RODRÍGUEZ, Ana	JU 008
RODRIGUEZ, Carlos Hernan	Oral MI 7, JU 054, JU 057
RODRIGUEZ, Eduardo	SAMIGE VI 2, JU 099
RODRIGUEZ, Gerardo	JU 075
RODRIGUEZ, Graciela Adriana	JU 134
RODRIGUEZ, Laura	MI 221, VI 220
RODRIGUEZ, Leticia	JU 208
RODRIGUEZ, Marcelo	JU 164, VI 005

RODRÍGUEZ, María Agustina	MI 108, MI 131
RODRIGUEZ, Maria Alejandra	MI 050, MI 057
RODRIGUEZ, María Margarita	JU 023
RODRIGUEZ, María Victoria	MI 203
RODRIGUEZ, Marina Celeste	VI 113, VI 142
RODRIGUEZ, Pablo	JU 157
RODRIGUEZ, Silvio David	JU 194
RODRÍGUEZ ACOSTA, Fátima	MI 178
RODRÍGUEZ DE LA PEÑA, Mercedes	VI 160
RODRÍGUEZ DE OLMOS, Antonieta	MI 215, VI 200
RODRIGUEZ FERMEPIN, Marcelo	JU 148, VI 064
RODRIGUEZ VAQUERO, M Jose	VI 011
ROFRIGUEZ, Alicia Raquel	MI 040
ROJAS, Dante	JU 173
ROJAS, Florencia	MI 024, MI 085, VI 086, VI 167
ROJAS, Liliana	MI 248
ROJAS, Natalia	MI 178
ROJO, Gabriel	MI 159, VI 157
ROJO, Maria Cecilia	MI 169, MI 170, MI 197
ROLAN, Martín Andrés	MI 158
ROLDAN, Carlos	JU 019
ROLDAN, Lorena	JU 136
ROLLAN, Graciela Celestina	MI 217, JU 221
ROLLET, Raquel	VI 030
ROLÓN, María José	MI 011
ROMANO, Maria Isabel	VI 082, VI 084
ROMANO, María Laura	JU 127
ROMANO, Vanesa	VI 059
ROMANUTTI, Carina	MI 143, MI 144
ROMEO, Florencia	JU 153
ROMERO, Cintia Mariana	JU 209
ROMERO, Federico	MI 058
ROMERO, Lílian	MI 190
ROMERO, María Mercedes	MI 044, MI 082
ROMERO, Sara Araceli	VI 045
ROMERO DONATO, Cindy Johana	VI 186
ROMERO SCHARPEN, Analía	JU 132
ROMERO VICTORICA, Matías	JU 124
ROMPATO, Karina Mariela	VI 221
RONDÓN, Johnma	MI 193, MI 249
RONDÓN, Yossmayer	MI 249
ROSA, Melisa	MI 212
ROSALES, Juan José	MI 135, MI 151
ROSALES, Lorenzo	MI 211
ROSALES, Rita	MI 193
ROSAS, Domingo	MI 226

ROSAS, Rocio Ayelen	VI 154
ROSATO, Otilio	VI 158
ROSMINI, Marcela	VI 137
ROSMINI, Marcelo	Oral VI 3
ROSSEN, John W. A.	MI 244, JU 242
ROSSETTI, Adelaida	VI 030
ROSSI, Lara	VI 137
ROSSI, Paola	JU 037, JU 041
ROSSI, Susana Lilian	MI 179
ROSSIGNOL, Gustavo	MI 021, MI 055
ROSSLER, Eugenia	JU 132, JU 199
ROSSO, David Antonio	MI 233
ROTTENGATTER, Karin	JU 142
ROUILLON, Adolfo	JU 174
ROULET, Julia	SAMIGE VI 9
ROVERA, Marisa	VI 114
ROVITO, Carla	MI 071
ROWLAND, Raymond	MI 127, JU 125
ROZBACH, Margaréta	MI 191
RUBINSTEIN, Gabriela	MI 001, MI 037
RUBIO, María Cristina	VI 218
RUCCI, Victoria	VI 076
RUCHANSKY, Dora	MI 160
RUGGERI, Diego	MI 040, VI 040
RUIZ, Francesca Sofia	JU 138, VI 187
RUÍZ, Gonzalo	MI 199
RUIZ, Jimena Alicia	MI 247
RUIZ, Marcelo Fabián	JU 066
RUIZ, María Julia	JU 045, VI 173
RUIZ, Matías	JU 094
RUIZ DE HUIDOBRO, Carlos Gustavo	VI 159
RULLI, Macarena María	Oral VI 6, JU 109
RUMBO, Martín	MI 032, MI 146, VI 172, VI 184
RUMI, Maria Valeria	JU 139, VI 138
RUSCASSO, Maria Florencia	MI 110, MI 213, MI 214, JU 108
RUSCHEL PILGER DE OLIVEIRA, Katia	MI 087, MI 088, JU 048, VI 044
RUSSO, Daniela	SAMIGE JU 6, MI 242
RUSSO, Mara Laura	Oral JU 4, VI 156
RUSSO, Matias Irineo	VI 180
RUVINSKY, Silvina	MI 066, JU 010
RUZAL, Sandra	SAMIGE VI 3, VI 168
SAA, Gladys	JU 008
SAAVEDRA, M. Carmen	MI 147
SABBIONE, Florencia	JU 230
SABLICH, Juan	VI 074
SACCO, Sofia	MI 123

SACERDOTI, Flavia	MI 039
SAENZ, Daniel	MI 034
SÁEZ, Gabriel Dario	VI 174, VI 175
SAGRERA, Gabriel	JU 017, VI 006
SAGUIR, Fabiana María	MI 194, MI 199
SAIDMAN, Silvana B.	VI 260
SAINO, María Agustina	VI 160
SAIZ, Mónica	VI 068
SAJUR, Silvia Analía	MI 194
SALAS, Damián	VI 089
SALAS, Héctor Damián	JU 085, JU 086
SALERNO, Graciela L.	JU 216
SALES, Adriana M.	JU 209
SALIDO, Jimena	MI 154, JU 151
SALINAS, Claudia	MI 178
SALINAS, Facundo José	VI 028
SALINAS, Franco Maximiliano	VI 015
SALLOUM, María Soraya	MI 096, JU 091
SALMERÓN, Mariana B.	VI 159
SALMINEN, Seppo	VI 195
SALOMÓN, Horacio	MI 154
SALUSTRI, Guido	JU 127
SALVATIERRA, Hebe Natalia	JU 219
SALVATIERRA, Karina Alejandra	MI 054, MI 079, MI 163, JU 079
SALVUCCI, Emiliano	VI 188, VI 189
SAMARTINO, Luis Ernesto	VI 036
SAN MARTIN, Eduardo	MI 024
SANABRIA, Ernesto	JU 223
SANANEZ, Inés	MI 161
SÁNCHEZ, Cecilia Isabel	MI 188
SÁNCHEZ, Gonzalo	VI 204
SANCHEZ, Juliana	JU 149
SÁNCHEZ, María Laura	MI 195, MI 196, JU 179
SÁNCHEZ, Mariana	JU 244
SANCHEZ, Pablo Omar	MI 159
SANCHEZ, Silvana	JU 188
SANCHEZ COLUCCI, Agustina	MI 033
SANCHEZ DÍAZ, Macarena Rocío	MI 189
SANCHEZ GILER, Sunny Eunice	MI 164
SÁNCHEZ LEÓN, Gina Lorena	VI 092
SÁNCHEZ RIZZA, Lara	JU 217, VI 216
SÁNCHEZ THOMAS, Diego	VI 102
SANDEZ PENIDEZ, Sergio Hernán	MI 217, JU 221
SANDI, Alejandro Ariel	JU 195, VI 001
SANDOVAL, Natalia Elisa	MI 114
SANGORRIN, Marcela Paula	JU 211, VI 222

SANGUINO, Silvia	JU 064
SANGUINO-JORQUERA, Diego Gaston	VI 127
SANSO, Andrea Mariel	MI 246, JU 131, JU 246, JU 255
SANTA CRUZ, Juan Francisco	MI 234, VI 234
SANTANA RIBEIRO, Patrícia	VI 104
SANTANGELO, María de La Paz	VI 082, VI 084
SANTIAGO, Adriana	JU 044
SANTIAGO BISPO DA SILVA, Jéssica	JU 024
SANTIBAÑEZ, Maria Eugenia	JU 196
SANTINI, María Soledad	MI 077
SANTISO, Gabriela	MI 085
SANTONI, Gabriela	VI 059
SANTOS, Ana Paula	JU 234
SANTOS, María Paula	MI 094, VI 238
SANTOS, Mauricio	MI 038
SANTOS MUÑOZ, Andrea	MI 086
SANZ, Marcelo	MI 039
SANZ SMACHETTI, María Eugenia	JU 216
SAPARRAT, Mario	JU 103
SAPOSNIK, Lucas	Oral VI 1
SARI, Santiago	MI 170
SARNACKI, Sebastian	JU 026, JU 027, JU 028
SARNIGUET, Soledad	VI 130
SARTI, Gabriela Cristina	MI 092, JU 090
SARTORIO, Mariana	JU 258
SASIAIN, María Del Carmen	MI 074, VI 081
SAUER, Herman	VI 068
SAUKA, Diego	MI 097, JU 102
SAVORETTI, Franco	JU 251
SAWOSTJANIK AFANASIUK, Silvana Soledad	JU 222
SAYAGO, Pamela	MI 241
SCALISE, M.Lujan	MI 039
SCAPELLATTO, Pablo Gustavo	JU 055
SCARAFIA, Leila	JU 037
SCARANO, Silvia	MI 049, MI 050, MI 057
SCARONE, Nahuel	JU 247
SCATENA, Maria Gabriela	VI 077, VI 088
SCATTOLINI, Albertina	SAMIGE VI 1
SCHEJTER, Laura	MI 114
SCHELL, Celia	MI 041
SCHIJMAN, Alejandro Gabriel	JU 142
SCHIJMAN, Mariela	VI 051
SCHINCHIRIMINI, Maria Martha	JU 015
SCHMEDA-HIRSCHMANN, Guillermo	JU 152
SCHMELING, Fernanda	MI 124
SCHMIDBERGER, Marcelo	MI 042

SCHREYER, Mariana E.	JU 199
SCHUCHINSKY, A.G.	MI 155
SCHUMANN, Peter	VI 236
SCHWARZ, Thandi	MI 260
SCIARINI, Lorena	VI 189
SCOCOZZA, Laura	JU 247
SCOLARI, Fernando	SAMIGE MI 4
SCOLARO, Luis Alberto	JU 071, JU 150, VI 151
SCORZATO, María Laura	JU 020, JU 084
SCROMEDA, Gabriela	MI 079, VI 010
SEERY, Vanesa	MI 161
SEGOVIA, Sebastián	MI 177
SEGURA, Ines	VI 095
SEGURA, María Belén	VI 097
SELUY, Lisandro	MI 119, JU 120
SEMORILE, Liliana	JU 244, JU 248, VI 248, VI 037
SENOVIESKI, Matías	VI 196
SEQUEIRA, Gabriel J.	Oral VI 3, JU 199
SERAFÍN MUÑOZ, Alma Hortensia	VI 131
SERENA, María	MI 133, MI 152
SERRA, Diego Omar	VI 207
SERRAL, Federico	MI 010
SERRUTO, Gisela Ines	JU 006, JU 042, JU 063
SEVILLA, Carolina	JU 206
SGROPPO, Sonia Cecilia	VI 243
SGUAZZA, Hernan	MI 012
SHEAHAN, Maureen	MI 127, JU 125
SHIROMIZU, Carolina Maiumi	MI 233, JU 230
SIAREZ, Verónica Natalia	MI 059
SICA, María Gabriela	VI 260
SIEIRA, Rodrigo	JU 253
SIGNORINI, Marcelo	JU 132, JU 199
SILVA, Anahí	JU 052
SILVA, Jéssica S. B.	VI 022, VI 023
SILVERO, María Jazmín	MI 067, MI 120
SILVERO COMPAGNUCCI, María Jazmín	VI 013
SILVESTRE, Dalila	MI 146, MI 157
SILVESTRINI, Paula	MI 128, VI 134
SILVINA, Ghio	MI 118, MI 191, JU 124
SIMBOLI, Norberto	Oral MI 8, MI 075, JU 046, VI 083
SIMONETTO, Antonela	VI 057
SINCHI, Anabel	Oral JU 8
SIOYA, Bernardo	VI 251
SIRINI, Noeli	JU 132, JU 136
SIRVENT, Julia	MI 001, MI 037
SIVIERI, Katia	VI 190, VI 191

SLIMOVICH, Rut	JU 075, JU 076
SLY, Gabriela	MI 061, JU 247, VI 071
ŠMAJS, David	JU 036
SMANIA, Andrea M.	MI 241, VI 250
SMAYEVSKY, Jorgelina	VI 054, VI 059
SMITHUIS, Fernando	JU 052
SOARES DA SILVA, Edilson	VI 104
SOARES DA SILVA, Raquel	VI 058
SOARES DA SILVA, Rosana	VI 104
SOCOLOVSKY, Javier Andrés	VI 077
SOKEN, Luciana	MI 025, JU 002
SOLA, Claudia	Oral MI 6
SOLANS, Mariana	VI 236
SOLAR VENERO, Esmeralda Clara	VI 247
SOLDA, Carina Alejandra	MI 069, MI 172, MI 177
SOLDAVINI PELICHOTTI, Paola Cecilia	VI 038
SOLER BISTUÉ, Alfonso	JU 243
SOLITO, Ana	JU 176
SOLOAGA, Rolando	MI 048
SOLÓRZANO, Inés	VI 015
SONCINI, Fernando	SAMIGE JU 8, VI 253
SORDELLI, Daniel	Oral VI 2, Oral VI 7, MI 034, JU 257
SORIA, Marcelo	JU 124
SORIA, María Cecilia	MI 180
SORIA, Mario Alberto	JU 128, JU 135
SORIANO, María de Los Angeles	JU 146
SORIANO, Silvia	Oral VI 4, MI 141
SOSA, Ana Laura	JU 089
SOSA, David Ariel	JU 148
SOSA, Ezequiel Jorge	MI 075
SOSA, Fernanda	MI 252
SOSA, Maria Cristina	JU 171
SOSA, Maria de Los Angeles	MI 024, MI 085, VI 086
SOSA, Nelida	MI 132
SOSA, Oscar	MI 199
SOSA, Pilar	MI 214
SOSA ESCUDERO, Miguel	MI 029
SOSA PAREDES, Esteban	MI 029
SOTELO, Ailin Angélica	MI 136, JU 158
SOTERAS, Alejandro	MI 137
SOTERAS, Trinidad	JU 172
SOTO, Lorena	JU 136, VI 137
SOTO, Silvina	JU 169
SOTO, Sonia Soledad	VI 161
SOTOMAYOR, Florencia	VI 204
SPAGNOLO, Lorena Cecilia	MI 100

SPARO, Mónica	MI 041, JU 045
SPETTER, Maximiliano	JU 153
SPIOUSSAS, Silvia	JU 188
SPRÖER, Cathrin	VI 236
SPUCHES, Florencia Cecilia	JU 209
SREBOT, Maria Sol	MI 203
STAGNARO, Juan Pablo	MI 041
STAGNARO, Stella Maris	JU 176
STAUBER, Gabriela Maillén	JU 134
STECHER, Daniel	VI 075
STECKINGER, Agustina	JU 081
STEFANINI, María	JU 188
STEIMBRUCH, Bruno	JU 258
STERLING, Florencia	JU 106
STEVEN, María Cecilia	JU 192
STOCCO, Antonella	MI 207, JU 206
STOPPANI, Constanza	JU 136
STRIEBECK, Pablo	JU 005, VI 046
STUDDERT, Claudia	JU 249, VI 241
STUPAR, Petar	JU 229
STUPKA, Juan	MI 145, JU 165, VI 078
STURM, Maria Elena	MI 169, MI 170, MI 185
SUAREZ, Gustavo Daniel	MI 014
SUAREZ, Laura Ines	MI 037
SUÁREZ, Mariana	VI 034
SUAREZ, Nadia Elina	VI 200
SUÁREZ-ALVAREZ, Roberto	VI 089
SUCARI, Adriana	MI 047, JU 026, JU 180, JU 181, VI 025, VI 056, VI 068, VI 197
SUJEMECKI, Alicia	JU 049
SULIGOY, Carlos Mauricio	Oral VI 2, Oral VI 7, MI 034
SVIDLER LOPEZ, Laura	VI 064
SVIERCZ, Franco Agustin	VI 165, VI 166
SYCZ, Gabriela	JU 253
SZUSZ, Wanda	VI 027
TABARES, Emilce Laura	VI 215
TABOADA, Natalia	MI 226, JU 068
TABOGA, Oscar	Oral JU 1, VI 148
TACCHINI, María Del Mar	JU 050, VI 070
TADDEO, Federico	VI 256
TAICHURE, Eliana	MI 043
TAICZ, Moira	JU 010
TAJAN, Carlos	MI 234, VI 234
TAKEMOTO, María Ester	MI 158
TALAVERA, Angel	JU 064
TALIA, Paola	JU 124, JU 127
TALMON, Gabriel	JU 159

TAMBORINI, Ana	VI 055
TANO, Josefina	MI 203
TAPIA, Estefania	MI 207
TARACILA, Magdalena	JU 023
TARANTO, María Pía	JU 032, VI 039
TARIFA, María Clara	VI 192, VI 193
TARSITANO, Julián	SAMIGE JU 6
TARTAGLIA, Agustín	Oral VI 4
TAVERNA, Constanza	MI 081, VI 027, VI 080
TEIJEIRO, María	MI 070
TEMPERINI, Carolina	MI 098, MI 103, VI 109, VI 123
TEMPORITI, Elena	MI 016, MI 080, VI 102
TEMPRANA, Carlos Facundo	MI 146, MI 157
TERZANO, Marina	VI 051
TERZOLO, Horacio	VI 144, JU 004
TESORIERO, María Florencia	SAMIGE MI 3
TEVEZ CIAPPINO, Maria Noel	JU 190
TEYSSANDIER, Santiago	VI 146
THEAUX, Clara	JU 052
THEILL, Laura	JU 088
TIJET, Nathalie	Oral MI 2
TISSOT, Carla	Oral MI 5
TOBARES, Romina Alin	MI 241
TODERO, María Florencia	JU 046
TOGNERI, Ana María	VI 053
TOLEDANO, Analía	JU 148
TOLEDO, Constanza	JU 011
TOLOSA, Juan	VI 230
TOMAR, Sakshi	VI 152
TOMAS, Gonzalo	JU 056, JU 058
TOMÁS-GALLARDO, Laura	JU 110
TOMATIS, Pablo Emiliano	MI 023, VI 250
TOMEY, María Eugenia	JU 038
TONIUTTI, María Antonieta	JU 236, VI 110
TORANZO, Adriana	JU 085, JU 086, VI 089, VI 099
TORANZO, Araceli	MI 258, JU 227
TORESANI, Inés	MI 031, MI 056, JU 038
TORNELLO, Carina	JU 024
TORO, Magaly	JU 250
TORO, Maria Eugenia	MI 222
TORRENTE, Karina Andrea	MI 212, VI 211
TORRES, Adriana	JU 107, VI 091, VI 114, VI 115
TORRES, Carolina	JU 111, JU 163, VI 126
TORRES, Cecilia	MI 048
TORRES, Diego	VI 102
TORRES, Graciela	JU 076

TORRES, Maria Julia	MI 091
TORRES, Mariela Analía	Oral VI 8, VI 128
TORRES, Silvina Marcela	MI 049
TORRES, Vanina	MI 064
TORRES MANNO, Mariano	VI 225
TORRES NICOLINI, Andrés	VI 206
TORRES SOPORSKY, María de Los Ángeles	MI 194
TORRES TEJERIZO, Gonzalo	MI 231, VI 239, VI 240
TORRUELLA, Mónica	MI 036
TORTI, Jerónimo	JU 193
TORTI, María Florencia	MI 153
TORTONE, Marcos	JU 050, VI 070
TOSCANINI, María	VI 096
TOSELLO, Claudia	VI 075
TOSELLO, Maria Elena	MI 083, JU 081
TOUS, Mónica	MI 070, MI 071, VI 078
TOUZON, Maria Sol	JU 247
TRAGLIA, German	MI 047, MI 061, JU 029
TRANGONI, Marcos	MI 256
TREJO, Fernando	MI 187, VI 038
TREJO, Nora Graciela	MI 183
TRENTACOSTE, Agustín	JU 160
TREVANI, Analía	JU 230
TREVIÑO, Natalia	MI 252
TREVISAN, Stella Maris	MI 063
TREVISI, Daniela	JU 004
TRIBELLI, Paula	VI 247
TRIFONE, César Arielk	MI 154, JU 151, VI 149
TRÍPODI, Valeria	JU 207
TRISTÁN, Mariano	VI 063, VI 065
TRUCCOLO, Paula	VI 012
TUCHSCHERR, Lorena	Oral VI 2
TUDELA, Marisa Andrea Aluminé	VI 109, VI 123
TUDURI, Ezequiel	MI 003, MI 017, MI 019, JU 016, JU 018, VI 003, VI 007, VI 017, VI 062
TULIN, Gonzalo	SAMIGE JU 8
TURJANSKI, Adrian	Oral MI 8, MI 075
TURK, Gabriela	MI 154, VI 149
TURPO, Melisa	JU 056, JU 058
TUZINKIEVICZ, Tamara	MI 138
TYMCZYSZYN, Emma Elizabeth	VI 248
UCHIMA, Paula	VI 059
UMBELINO DA SILVA, Suelen	VI 104
URSO, Maria Dolores	JU 144, JU 145
USSEGLIO, Virginia	SAMIGE JU 1
ÚSUGA MONROY, Cristina	VI 145
UTTARO, Antonio D.	SAMIGE VI 1

VACCA, Carolina	MI 250, MI 253
VACCARI, María Celia	VI 132
VACCHINA, Paola	SAMIGE VI 1
VACCHINO, Martín	VI 073
VAGNONI, Lucas	VI 084
VALDÉS, Fabricio Emanuel	MI 238, MI 239
VALDÉS LA HENS, Danay	JU 244, JU 248, VI 248
VALDEZ, Heliana Hebe	JU 061
VALDEZ, Ruth	MI 085
VALENTI, Eugenia	JU 047, JU 053
VALINOTTO, Laura	MI 159, VI 157
VALLEJO, Claudia	VI 011
VALLEJO, Marisol	JU 182
VALLEJO, Martha D	MI 221, VI 220
VALLEJOS, María Belén	Oral VI 5, VI 129
VALLES, Julieta	MI 044, MI 045
VALVA, Pamela	MI 162
VALVERDE, Carolina	VI 164
VALVERDE, Claudio	SAMIGE JU 7, MI 204, JU 233, JU 241, VI 107
VANASCO, Bibiana	MI 124
VARDARO, Gustavo	JU 020
VARELA, Patricia	JU 116, VI 259
VARG, Rossana Alejandra	MI 013
VARGAS DURAN, Florencia	VI 101
VARGAS TRINIDAD, Andrea Susana	MI 169, MI 197, MI 198
VARON MOLANO, Jhonatan	VI 139
VASQUEZ PINOCHET, Sandra	VI 141
VÁTER, Adrián	VI 145
VAUDAGNA, Sergio	MI 245, JU 172, JU 194
VAUSTAT, Daniela	VI 030
VAY, Carlos	Oral MI 7, MI 061, JU 029, JU 046, JU 054, JU 057, VI 060, VI 067, VI 075
VÁZQUEZ, Carolina	SAMIGE JU 1, MI 096, MI 099, VI 026
VAZQUEZ, Cecilia Alejandra	VI 152
VÁZQUEZ, Fabio	SAMIGE MI 2, MI 222, JU 205, JU 208, JU 212, JU 232, VI 194, VI 204, VI 211, VI 212, VI 214
VÁZQUEZ, Nicolás Martín	MI 209
VAZQUEZ, Susana	JU 113, JU 219
VÁZQUEZ LARA, América Yazmin	VI 131
VÁZQUEZ-CHACON, Carlos Arturo	MI 076
VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, David	MI 076
VEAS, Vanina Paola	VI 224, VI 226
VEDOYA, María Celina	MI 079, JU 079
VEGA, A. Gustavo	JU 122
VEIGA, Maria Florencia	VI 060
VELA, María Elena	JU 011, JU 229
VELA, Valentina Sol	MI 218

VELASCO MANINI, Marina Andrea	MI 217, JU 221
VELÁZQUEZ, Ernesto	MI 079
VELAZQUEZ, Jorge	JU 143
VELAZQUEZ, Maria Silvana	MI 238, MI 239
VELAZQUEZ, Natalia	MI 123, MI 128, VI 134
VELEZ, María Victoria	JU 130, JU 250
VELILLA, Alejandra	JU 004, JU 129, VI 144
VELLICCE, Alejandra	JU 148
VENEZUELA, Raul	JU 021, JU 064, VI 158
VENISSE, Jean Stephane	VI 114
VENTURA, Victoria	JU 020
VENTURINI, Cecilia	JU 145
VENUTA, Elena	JU 019
VERA, Leda Mailen	MI 250, MI 253
VERA, M. Daniela	VI 011
VERA, María Soledad	JU 185, JU 189
VERA, Mariana Belén	MI 079, JU 079
VERA, Mariela Natalia	MI 174
VERA CANDIOTI, Luciana	JU 213, JU 220
VERCELLI, Beatriz	JU 039
VERDENELLI, Romina Aylén	MI 099
VERESCHUK, Manuela Lizz	VI 237
VERGARA ALVAREZ, Silvia Cristina	MI 222, VI 194
VERKUYL, Melanie	MI 234, VI 234
VERMEULEN, Mónica	MI 032
VERNA, Andrea Elizabeth	JU 153
VERO, Silvana	MI 110, MI 213
VERONA, Julián	MI 063
VERONA, María Florencia	MI 063
VESCINA, Cecilia	MI 252, VI 097
VESCOVO, Marisa	Oral MI 8
VIALE, Alejandro	MI 004, MI 255, JU 055, JU 237, VI 008, VI 258
VIALE, Diana	JU 160
VIALE, Mariana	JU 085, JU 086, VI 089
VIARENGO, Gastón	SAMIGE VI 4
VICARIO, Silvia	MI 050, MI 057
VICECONTE, Romina	MI 048
VICTORIA MONTERO, Matías	MI 200
VIDAL, Arnau	JU 191
VIDAL, Maricel	JU 197
VIDAL, Patricia	VI 009, VI 085
VIDAL, Roberto	JU 130, JU 197, JU 250, JU 255
VIDAL BRAMBILLA, Manuel	JU 175
VIDAURRETA, Santiago	JU 160
VIDELA, Cecilia	VI 108
VIDELA, Cristina	MI 142

VIEGAS, Mariana	VI 163
VIELMA, Jesús	VI 035
VIERA, Elida	MI 121
VIERA, Marisa	MI 008
VIGLIAROLO, Laura	VI 034
VIGNOLO, Graciela Margarita	MI 174, MI 176
VILA, Alejandro	MI 023, VI 037, VI 250
VILA, Andrea	JU 055
VILA ROZA, Verónica	MI 041
VILACOBA, Elisabet	VI 033
VILAR, Gabriela N	MI 070, VI 074
VILLAFAÑE, David Lionel	JU 099
VILLAGRA, Veronica	MI 156
VILLALBA, Cecilia	VI 018
VILLALBA, Laura	MI 116, VI 106, VI 213, VI 237
VILLALBA, María Inés	JU 229
VILLAREAL, Mabel	VI 078
VILLARINO RUFENER, Andrea Elizabeth	JU 077
VILLARREAL, Mabel	VI 080
VILLEGAS, Liliana Beatriz	MI 257, JU 115, JU 202, VI 215, VI 245
VILLENA, Julio	VI 011
VILTE, Daniel Alejandro	MI 039, JU 133
VINACOUR, Matias Esteban	MI 247
VINANTE, Monica Alejandra	MI 048
VINDEROLA, Gabriel	VI 190, VI 195, VI 196
VINTIÑI, Elisa Ofelia	MI 142
VINUESA, Marta	MI 252
VIÑARTA, Silvana Carolina	VI 255
VIÑAS, María Rosa	JU 051, JU 252, VI 046, VI 062
VISCARDI, Ignacio Guillermo	MI 049
VISIC COTO, Luis Osvaldo	JU 040, VI 043
VIVOT, Flavia	JU 085, JU 086, VI 089
VIVOT, Matias	VI 027
VIVOT, Walter	VI 018, VI 027
VIZOSO PINTO, María Guadalupe	VI 011, VI 164
VIZZOTTI, Carla	JU 161
VLADIMIRSKY, Sara	MI 071, VI 078, VI 161
VOBIS, Gernot	VI 236
VOGEL, Alejandra	MI 064
VOGT, María Verónica	VI 203
VON DER THUSEN, Santiago	JU 066
VON SPECHT, Martha Helena	VI 072
VRBOVA, Eliska	JU 036
VULLO, Diana Lía	VI 208, VI 209
WACHNITZ, Yanina	MI 085
WAGNER, Jorge Ricardo	MI 189

WAGNER, Juan Cruz	JU 135
WAINMAYER, Ingrid	MI 075, VI 083
WALL, Luis	JU 235
WANDERER, Karina	VI 010
WEGERT, Adriana	MI 054
WEHRENDT, Diana Patricia	JU 142
WELTMAN, Gabriela	JU 063
WENDLER, Sindy	Oral VI 2
WERENITZKY CURIA, Maria Cecilia	MI 020
WETH, Cristian E.	VI 120
WETZLER, Diana	SAMIGE VI 7
WEYLAND, Beatríz	JU 057
WIDGOROVITZ, Andres	JU 157
WILCKE, Gabriela	MI 138
WILGENHOFF, Lorena	MI 001, MI 037
WILMAN, Delgado	MI 208
WINNIK, Daniana Lilian	VI 020
WIRTH, Sonia Alejandra	MI 192
WISNER, Barbara	JU 006, JU 042, JU 063
WITIS, María Evangelina	MI 158
WOLF, Irma Verónica	MI 223
WOLFLE, Cyntia Paola	MI 054
WOLMAN, Federico	JU 219
WONG CHERO, Paolo	Oral MI 1
WOO, Yissue	MI 173
WUERTZ, Stefan	MI 173
WURDIG ROESCH, Eliane	MI 087, MI 088, JU 048, JU 082, VI 044
YANTORNO, Osvaldo	JU 228, JU 229
YAÑUK, Danila	VI 020
YARTE, Mauro Enrique	VI 235
YARZÁBAL, Luis Andrés	MI 193
YAURI, Katherine	MI 027
YEPES, Juan Manuel	JU 056, JU 058
YERKOVICH, Nadia	MI 211, JU 198
YIM, Lucía	SAMIGE VI 4
YOKOBORI, Kaoru	MI 075
YOKOBORI, Noemí	Oral MI 8, JU 046, VI 083
YONES, Cristian	VI 069
ZACARÍAS, Karina	MI 159
ZACCARDI, Julia	VI 076
ZAFRA, German	MI 005
ZALBA, Pablo	MI 108
ZALOSNIK, Inés	VI 189
ZAMBRANO, Juan Diego	MI 164
ZAMBRANO SOLEDISPA, Ana	JU 092
ZAMORA, Ana María	Oral JU 4, MI 142, VI 159

ZAMPATTI, Mariela	MI 189
ZAMPEDRI, Patricia Andrea	JU 069
ZAMPINI, Gustavo	JU 050, VI 070
ZANELLO, Victoria	JU 112
ZANETTI, Flavia	MI 143
ZAPATA, Pedro Dario	MI 205
ZAPATA, Pedro Darío	MI 116, JU 098, JU 222, VI 106
ZAPATA, Pedro Darío	JU 210, VI 165, VI 166, VI 213, VI 237, VI 243, VI 244
ZARACHO, Juan	JU 006, JU 042, JU 063
ZÁRATE, Gabriela	VI 174, VI 175
ZARATE, Mariela Soledad	JU 006, JU 042, JU 063
ZÁRATE, Noemí	MI 248
ZAYAS, Sofía	VI 158
ZBRUN, María Virginia	JU 199, VI 137
ZERBONI, Sofía	MI 016, VI 102
ZIMMERMANN, Jorge	JU 136, VI 137
ZIMMERMANN, Roxana	JU 066
ZINTGRAFF, Jonathan	MI 060, VI 041, VI 063
ZIPENCO MONNE, Nadia Romina	JU 180, JU 181, VI 197
ZOLEZZI, Gisela	Oral MI 4
ZORATTI, Alicia	MI 063
ZORREGUIETA, Angeles	SAMIGE JU 6, MI 242, JU 253
ZORRILLA, Maria Elena	MI 156
ZOTTA, Elsa	MI 032
ZOTTA, Marcelo	JU 255
ZUAZQUITA, Andrea	VI 074
ZUBER, Nicolás	JU 236, VI 110
ZUBILLAGA, Marcela	JU 059
ZUCOTTI, Agostina	JU 039
ZULIANI, María Victoria	JU 080
ZULOAGA, Leila	MI 033
ZULUETA, Martina	JU 114
ZUMARRAGA, Martin	JU 129
ZUÑIGA SOLANA, Gabriel	MI 073
ZURBRIGGEN, Laura	JU 035
ZYGADLO, Julio	SAMIGE JU 1

ISBN 978-987-46701-5-1