

II. basque microbiology meeting



eman ta zabal zazu
Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

NEIKER

MEMBER OF
BASQUE RESEARCH
& TECHNOLOGY ALLIANCE

MikrobioGUNE
II Basque Microbiology Meeting
Bizkaia Aretoa UPV/EHU, Bilbao
13 de diciembre de 2022

Organizadores



Patrocinadores





Comité Organizador

Leticia Abecia (UPV/EHU)
Natalia Elguezabal (NEIKER)
Elena Eraso (UPV/EHU)
Joseba Garrido (NEIKER)
Sandra Gil (UPV/EHU)
Andrea Guridi (UPV/EHU)
Cristina Marcos (UPV/EHU)
Ianire Mate (UPV/EHU)
Estibaliz Mateo (UPV/EHU)
Itxaso Montánchez (UPV/EHU)
Elena Sevillano (UPV/EHU)
Esther Tamayo (UPV/EHU)
Iranzu Telletxea (NEIKER)

Comité Científico

Leticia Abecia (UPV/EHU)
Iker Agirregomokorta (NEIKER)
Natalia Elguezabal (NEIKER)
Elena Eraso (UPV/EHU)
Carlos Garbisu (NEIKER)
Joseba Garrido (NEIKER)
Sandra Gil (UPV/EHU)
Andrea Guridi (UPV/EHU)
Ana Hurtado (NEIKER)
Eneko Largo (UPV/EHU)
Cristina Marcos (UPV/EHU)
Ianire Mate (UPV/EHU)
Estibaliz Mateo (UPV/EHU)
Katherine Miranda (UPV/EHU)
Itxaso Montánchez (UPV/EHU)
Guillermo Quindós (UPV/EHU)
Elena Sevillano (UPV/EHU)
Esther Tamayo (UPV/EHU)

Programa

Sesión de mañana

08:45-09:00 Inscripción.

09:00-09:30 Inauguración y bienvenida.

- Jose Luis Quintas, viceconsejero de Salud.
- Bittor Oroz, viceconsejero de Agricultura, Pesca y Política Alimentaria.
- Gorka Moreno, vicerrector del campus de Bizkaia.
- Guillermo Quindós, vicerrector de Desarrollo Científico-social y Transferencia.
- Elena Sevillano, comité organizador UPV/EHU.

09:30-10:15 Sesión 1.

Moderadores: Joseba Garrido (NEIKER) y Andrea Guridi (UPV/EHU).

Christian Gortázar. Instituto de Investigación en recursos cinegéticos (IREC–CSIC, UCLM, JCCM). Patógenos emergentes y cambio global, una perspectiva desde la medicina de la conservación.

10:15-11:15 Comunicaciones orales.

Moderadores: Joseba Garrido (NEIKER) y Elena Eraso (UPV/EHU)

O1. Oier Etxebeste. UPV/EHU.

Identificación y caracterización funcional del complejo ciclina-quinasa transcripcional CTDK-1 en el género *Aspergillus* como regulador del crecimiento y desarrollo.

O2. Uxue Perez-Cuesta. UPV/EHU.

Un factor de crecimiento de *Aspergillus fumigatus* podría ser la granulina desaparecida en el reino fúngico.

O3. Carla Pérez-Cruz. AZTI.

Degradación del polisacárido complejo fucoidán por parte de Planctomycetes marinos: caracterización de cepas pertenecientes al género *Rhodopirella* aisladas del macroalga *Fucus spiralis*.

O4. Adrián Salazar. UPV/EHU.

Estudio de la capacidad de formación de celulosa de *Arcobacter butzleri*: efecto de la temperatura y tiempo de incubación.

O5. Xu Han. BioCruces-PiE-UPV/EHU.

Revelando el mecanismo de acción de los factores de ensamblaje de ribosoma universalmente conservados que determinan la aptitud de las bacterias y la resistencia a los antibióticos.

O6. Irena Fernández. Promega.

Detección de patógenos en aguas residuales: un nuevo sistema más rápido y versátil.

11:15-11:45 Café y sesión de posters.

11:45-12:45 Comunicaciones orales.

Moderadores: Leticia Abecia (UPV/EHU) e Iker A. Sevilla (NEIKER).

O7. Gerard Badia-Bringué. NEIKER.

Asociación entre altos niveles de interferón- γ (IFN- γ) en respuesta a la tuberculina aviar y genes candidatos implicados en necroptosis y agregación plaquetaria.

O8. Lucía Gandarias. UPV/EHU.

Mejora de las bacterias magnetotácticas como agentes teragnósticos mediante la incorporación de terbio y gadolinio.

O9. Pablo Díaz. The Art of Discovery.

Adaptación de una cepa clínica camboyana de *Plasmodium falciparum* resistente a artemisinina en un modelo de ratón humanizado.

O10. Ramón Juste. NEIKER.

Protección no específica frente a formas graves de COVID-19 por vacunación contra fiebre tifoidea.

O11. Matxalen Vidal. Hospital Universitario Basurto.

Identificación, detección de genes de resistencia de betalactamasas y tipado molecular de *Klebsiella pneumoniae* a partir de hemocultivo mediante secuenciación masiva.

O12. Aitzol Perez-Rodriguez. UPV/EHU.

Jelleinas: péptidos antifúngicos para el tratamiento de las infecciones por *Candida auris* y otras especies emergentes de *Candida*.

12:45-13:30 Sesión 2.

Moderadores: Leticia Abecia (UPV/EHU) e Iker A. Sevilla (NEIKER).

Jaione Valle. Instituto de Agrobiotecnología-CSIC.

Amiloides bacterianos como puntos de inflexión del desarrollo de enfermedades neurodegenerativas.

13:30-15:00 Comida.

Sesión de tarde

15:00-15:45 Sesión 3.

Moderadoras: Estibaliz Mateo (UPV/EHU) y Ana Hurtado (NEIKER).

Patricia Ruas. Instituto de productos Lácteos de Asturias IPLA-CSIC.

Bacterias para mejorar la salud humana en un entorno sostenible.

15:45-16:45 Comunicaciones orales.

Moderadoras: Estibaliz Mateo (UPV/EHU) y Ana Hurtado (NEIKER).

O13. Janire Castelo. CIC bioGUNE.

Capacidad inmunomoduladora del floroglucinol, un metabolito derivado de la microbiota, en la inflamación crónica.

O14. Jose Luis Lavín. NEIKER.

El organismo, una desconocida autopista bacteriana.

O15. Dolores Guzmán. Universidad de Cantabria.

La conjugación como herramienta de ingeniería genética: uso de relaxasas como vehículo de envío de ADN y proteínas.

O16. Maddi Oyanguren. NEIKER.

Bacterias probióticas modulan la respuesta inmunitaria a la vacunación frente a paratuberculosis.

O17. Celia Morales. Mikrobiomiks.

El primer medicamento biológico basado en microbiota intestinal ¿mito o realidad?

16:45-17:15 Café y sesión de posters.

17:15-18:15 Comunicaciones orales.

Moderadoras: Natalia Elguezabal (NEIKER) y Esther Tamayo (UPV/EHU).

O18. Miguel Angel Pardo. AZTI.

Marcadores microbiológicos como herramienta para determinar el origen geográfico del mejillón Mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*) cultivado.

O19. Arkaitz Almaraz. UPV/EHU.

Permanencia de *Vibrio* spp. en ambientes acuáticos.

O20. Iñaki Diez-Ozaeta. UPV/EHU.

Una nueva estrategia de selección de mutantes de *Weisella cibaria* sobreproductores de riboflavina con utilidad potencial en la industria alimentaria.

O21. María Lavilla. AZTI.

Bacteriófagos contra bacterias no deseadas en el sector agroalimentario.

O22. Iñigo Azua. UPV/EHU.

Efecto del calentamiento global en la digestión extracelular de polímeros orgánicos en aguas superficiales costeras del Mar Cantábrico oriental.

18:15-18:30 Conclusiones y despedida.

Natalia Elguezabal (NEIKER) y Elena Sevillano (UPV/EHU).

Ponentes

Christian Gortázar Schmidt

Instituto de Investigación en recursos cinegéticos (IREC–CSIC, UCLM, JCCM)



Christian Gortázar Schmidt es **licenciado en veterinaria y doctor** por la Universidad de Zaragoza. Entre 1990 y 1997 inicia su actividad investigadora como consultor autónomo y como responsable de I+D en la consultora Ebronatura. En 1999

obtiene una plaza de **Profesor Titular** en el Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC–CSIC, UCLM, JCCM), siendo director de este entre 2004 y 2008. Desde 2003 es responsable de la Unidad de Sanidad Animal, actualmente Grupo de Investigación en Sanidad y Biotecnología (SaBio).

Su actividad investigadora combina herramientas de **ecología, ciencias veterinarias y biotecnología**. Esto incluye enfermedades víricas, bacterianas y parasitarias con énfasis en el **control de los problemas compartidos entre la fauna silvestre, los animales domésticos y el hombre**, como la tuberculosis o las infecciones transmitidas por vectores.

Ha sido **responsable de ganadería y acuicultura en la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP)** en el periodo 2006 a 2008, ha presidido la sección europea de la Wildlife Disease Association (2012-2014), y es **editor jefe** de la revista European Journal of Wildlife Research. Participa desde 2015 en el Panel de Sanidad y Bienestar animal (Animal Health and Welfare, AHAW) de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority, EFSA), donde actualmente coordina el grupo de trabajo sobre **Peste Porcina Africana**.

Jaione Valle

Instituto de Agrobiotecnología-CSIC



Jaione Valle Turrillas es **Científico Titular** desde el 2018 en el Grupo de Biología Molecular de Patógenos Bacterianos en el Instituto de Agrobiotecnología (IdAB), centro mixto del CSIC y Gobierno de Navarra.

Está especializada en el área de la Biomedicina. Desarrolla su investigación sobre el papel de los componentes del biofilm formado por bacterias de la microbiota y el desarrollo de enfermedades. En concreto, su investigación se centra en la identificación de las proteínas denominadas **BAP** (biofilm associated proteins) y su relación con **enfermedades neurodegenerativas**.

Estudió Biología y se doctoró en 2004 en la Universidad pública de Navarra, donde obtuvo una calificación de sobresaliente cum laude y premio extraordinario de Doctorado. Realizó una estancia postdoctoral en el **Instituto Pasteur**, en Francia, y obtuvo una beca Intraeuropean Marie-Curie Fellowship. En 2009 obtiene la Beca **Ramón y Cajal** en el Grupo de Investigación de Biofilms Microbianos y en 2016 un contrato JIN como investigadora senior en el Instituto de Investigación Navarrabiomed. Ese mismo año fue **galardonada** en la XI edición de los **premios L'Oreal-Unesco 'Mujeres en Ciencia'** por un proyecto cuyo objetivo era identificar y caracterizar las proteínas amiloides presentes en la **microbiota intestinal** con el fin de conocer su papel en el mantenimiento de la homeostasis y equilibrio del sistema gastrointestinal o en el desencadenamiento de **patologías neurodegenerativas como el Alzheimer o Parkinson**.

Patricia Ruas Madiedo

Instituto de productos Lácteos IPLA-CSIC



Patricia Ruas Madiedo es Doctora en Biología por la Universidad de Oviedo desde 1999 y en 2006, tras la etapa postdoctoral en el extranjero, obtiene la plaza de **Científico Titular** en el Instituto de Productos Lácteos de Asturias (**IPLA-CSIC**, Asturias); desde 2018 es Investigadora Científica dentro del grupo **Funcionalidad y Ecología de Microorganismos Beneficiosos** (Microhealth).

Su actividad investigadora se centra en el estudio y aplicación de **bacterias lácticas y bifidobacterias** como probióticos para consumo humano. Es reconocida por sus aportaciones en el campo de investigación sobre exopolisacáridos bacterianos como patrones moleculares que establecen una interacción con el hospedador, incluyendo la microbiota intestinal, así como su aplicación tecnológica en la mejora de propiedades sensoriales de alimentos.

Es **Coordinadora de la Red Temática** “Bacterias Lácticas en alimentación y salud” que aglutina más de 45 grupos de investigación en esta temática.

Colabora como **profesora en el Máster** Microbiota, Probióticos y Prebióticos de la Universidad Europea de Madrid.

Ponencias invitadas y comunicaciones orales

Sesión 1. Patógenos emergentes y cambio global, una perspectiva desde la medicina de la conservación.

Christian Gortázar

*Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC–CSIC, UCLM, JCCM)
E-mail de contacto: christian.gortazar@uclm.es*

Una enfermedad emergente es una enfermedad nueva en una especie o una región geográfica. También es emergente una que aumenta su presencia de manera repentina. Pero ¿cuánto sabemos de los animales, sus patógenos, y de los factores que intervienen en el proceso de emergencia? Los patógenos son componentes naturales de cualquier sistema biológico. Los patógenos emergentes comparten una serie de características, como la capacidad de infectar múltiples hospedadores, tener una distribución global y ser difíciles de controlar. Los patógenos pueden emerger desde la fauna silvestre, desde los animales domésticos o incluso evolucionar entre las propias personas. Por tanto, el riesgo de emergencia de patógenos posiblemente sea similar entre fauna, animales domésticos y seres humanos.

Lo que sí resulta probable es que estemos acelerando el proceso de emergencia. Nada menos que tres coronavirus de importancia, SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2, han emergido dentro del siglo XXI. Los estudios que analizan las tendencias globales de emergencia sugieren que cada década emergen más zoonosis, y que muchas de esas zoonosis tienen su origen en fauna silvestre. Además, desde 1940, los cambios en la agricultura y en la ganadería podrían asociarse con más del 50% de las emergencias de enfermedades zoonóticas. Los mecanismos concretos varían en función del patógeno y su forma de transmisión, pero siempre tienen en común un origen en la modificación del entorno. Es decir, nuestro mundo es cada vez más vulnerable a nuevas emergencias.

No sabemos qué va a causar la próxima pandemia. Otro coronavirus, un virus influenza, bacterias resistentes a antibióticos, una enfermedad transmitida por vectores, un hongo o algo completamente inesperado. Lo que sí sabemos es que va a ocurrir más pronto que tarde, y que nos conviene estar mejor preparados.

O1. Identificación y caracterización funcional del complejo ciclina-quinasa transcripcional CTDK-1 en el género *Aspergillus* como regulador del crecimiento y desarrollo.

Agirrezabala Z¹, Guruceaga X², Martín-Vicente A², Otamendi A¹, Fagoaga A¹, Fortwendel JR², Espeso EA³, **Etxebeste O**¹

¹Laboratory of Biology, Department of Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, University of the Basque Country, UPV/EHU, Manuel de Lardizabal 3, 20018 San Sebastian.

²Department of Clinical Pharmacy and Translational Science, University of Tennessee Health Science Center, 881 Madison Avenue, room 322, Memphis, TN | 38163

³Department of Cellular and Molecular Biology, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC), Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid

E-mail de contacto: oier.echeveste@ehu.eus

El género *Aspergillus* incluye especies con importancia en industria, agricultura y medicina. Todas sus especies, como los hongos en general, se dispersan principalmente mediante esporas asexuales. *Aspergillus nidulans* es la referencia principal en el estudio del control genético/molecular del desarrollo asexual. Son dos las rutas principales de control de la producción de los conidióforos, estructuras que portan, cada una, miles de esporas asexuales (conidios). La ruta UDA transduce las señales ambientales, decidiendo si la ruta CDP, y con ella los cambios morfológicos requeridos, son activados o no. El regulador transcripcional BrlA une ambas rutas. Mutaciones de pérdida de función en los genes UDA *flb* bloquean la transcripción de *brlA*, y por tanto, la conidiación. Sin embargo, el fenotipo aconidial de mutantes *flb* específicos se puede revertir bajo condiciones de estrés salino. Previamente, generamos una librería de mutantes $\Delta flbB$ incapaces de conidiar en un medio de cultivo suplementado con NaH_2PO_4 (0.65M). En este trabajo, se ha identificado la mutación Gly347Stop en el gen *flpA* como responsable del fenotipo FLIP57 (*fluffy in phosphate*). La probable ciclina FlpA y el resto de componentes del complejo CTDK-1 (Stk47 y FlpB) son necesarios para el crecimiento y reproducción de *A. nidulans*, y también de *A. fumigatus*. Se presenta también el análisis de la localización subcelular de las tres proteínas, sus dependencias funcionales y su importancia en la virulencia de *A. fumigatus*. Este trabajo relaciona, así, el control de la actividad RNA polimerasa II con las transiciones morfológicas y la virulencia en el género *Aspergillus*.

O2. Un factor de crecimiento de *Aspergillus fumigatus* podría ser la granulina desaparecida en el reino fúngico.

Perez-Cuesta Uxue¹, Guruceaga Xabier², Cendon-Sanchez Saioa¹, Pelegri-Martinez Eduardo¹, Martin-Vicente Adela², Ramirez-Garcia Andoni¹, Fortwendel Jarrod², Abad-Diaz-de-Cerio Ana¹, Rementeria Aitor¹

¹Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, UPV/EHU, Leioa, España.

²Department of Clinical Pharmacy and Translational Science, Pharmacy College, UTHSC, Memphis, TN, EEUU.

E-mail de contacto: uxue.perezc@ehu.eus / ana.abad@ehu.eus / aitor.rementeria@ehu.eus

El gen Afu6g07200 codifica una proteína hipotética con un dominio granulina homólogo en su estructura 3D a la Granulina A humana (confianza 95,4%). Ésta está involucrada en proliferación y migración celular y se cree desaparecida en el reino fúngico. Nuestro objetivo es determinar el papel de este gen en la biología fúngica como posible factor de crecimiento. Mediante CRISPR-Cas9, se generó su delección ($\Delta 72$), su complementación, una cepa etiquetada con GFP y una cepa truncada utilizando como Wt la cepa de *A. fumigatus* \DeltaakuB^{ku80} . La ausencia del gen y del dominio granulina provocó disminución de la proliferación, áreas hinchadas en hifas y ápices, vacuolización y muerte celular. Además, en este mutante $\Delta 72$ la tasa mitótica estaba desacompañada con la septación y la ramificación. La pared celular tenía también una organización deficiente y separación entre pared y membrana. Estos cambios podrían estar relacionados con el aumento de su sensibilidad al Blanco de Calcofluor y al Rojo Congo. La proteína codificada podría ser secretada, localizándose en vesículas a lo largo del citoplasma. Este estudio muestra que el gen Afu6g07200 está implicado en la polarización, proliferación, el ciclo celular, la septación y la construcción de la pared celular, comportándose como una Granulina fúngica. Por otro lado, resalta la necesidad de profundizar en el estudio de los genes de proteínas hipotéticas de *A. fumigatus* dado que estas pueden ser importantes y podrían ser prometedoras dianas terapéuticas.

Financiación: Proyecto IT1657-22 del Gobierno Vasco. UPC, SCS y EPM han recibido becas predoctorales de la UPV y del Gobierno Vasco.

O3. Degradación del polisacárido complejo fucoidán por parte de *Planctomycetes* marinos: caracterización de cepas pertenecientes al género *Rhodopirellula* aisladas del macroalga *Fucus spiralis*.

Pérez-Cruz C, Arrizabalaga U, Liébana R, Lanzén A, Alonso-Sáez L

AZTI, Investigación Marina, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Sukarrieta.
E-mail de contacto: carlaperez@azti.es

Las algas pardas sintetizan un tipo muy concreto de polisacárido rico en fucosa denominado fucoidán, que es muy valioso a nivel biotecnológico por su elevada bioactividad. Debido a su compleja estructura, el fucoidán es degradado muy lentamente por las comunidades microbianas ambientales, y esto le confiere también un papel importante en el mantenimiento de la integridad y hundimiento de las partículas marinas, favoreciendo el secuestro de carbono. Con la excepción de una cepa de *Verrucomicrobia* que ha sido ampliamente caracterizada, se conocen muy pocos microorganismos marinos que sean capaces de degradar fucoidán y las estrategias fisiológicas empleadas para su degradación. En este trabajo nos hemos centrado en el aislamiento selectivo de representantes del filo *Planctomycetota*, que son interesantes porque se encuentran típicamente asociados a macroalgas y partículas marinas y tienen un gran potencial para degradar polisacáridos complejos. Se realizaron cerca de 200 aislamientos a partir de muestras de la macroalga *Fucus spiralis* y 7 aislados de *Planctomycetota* fueron seleccionados por sus características fenotípicas y su asignación taxonómica en base a la secuencia del gen ribosomal 16S. Sus genomas fueron secuenciados y su capacidad para crecer en fucoidán ha sido analizada. Tres de los aislados afiliados a *Rhodopirellula* muestran capacidad de degradar fucoidán y sus genomas codifican para un número elevado de fucosidasas, que se organizan en PULs (*Polysaccharide Utilization Loci*). En el futuro se realizarán estudios transcriptómicos y proteómicos, para una mayor caracterización de este proceso, junto con análisis químicos de los productos de degradación.

O4. Estudio de la capacidad de formación de celulosa de *Arcobacter butzleri*: efecto de la temperatura y tiempo de incubación.

Adrián Salazar-Sánchez¹, Idoia Sevillano¹, Itsaso Baztarrika¹, Lorena Laorden^{1,2}, Rodrigo Alonso^{1,2}, Irati Martínez-Malaxetxebarria^{1,2}

¹Grupo de Investigación Mikrolker, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Vitoria-Gasteiz.

²Microbiología, Enfermedades Infecciosas, Antimicrobianos y Terapia Génica, Bioaraba, Vitoria-Gasteiz.

E-mail de contacto: adrian.salazar@ehu.eus

Arcobacter butzleri, la especie más prevalente dentro del género, es considerado un patógeno emergente de transmisión alimentaria debido a su capacidad de producir cuadros gastrointestinales, entre otros, así como a su alta distribución y prevalencia medioambiental y alimentaria. *A. butzleri* es capaz de formar biopelículas (estructuras que favorecen la supervivencia bacteriana, su permanencia en el medio y, por consiguiente, su transmisión). Conocer la composición del *biofilm* de *Arcobacter*, actualmente desconocida, podría ayudar al diseño de estrategias de control de este patógeno. Estudios recientes llevados a cabo por nuestro grupo han señalado que *A. butzleri* pudiera ser capaz de sintetizar celulosa como parte de su *biofilm* al igual que otras bacterias. En este trabajo se presenta la capacidad de producción de celulosa de 55 cepas de *A. butzleri* aisladas de distintos orígenes por el grupo de investigación en anteriores estudios, así como el efecto de la temperatura y tiempos de incubación en la misma. Para ello se realizaron un mínimo de seis pruebas de producción de celulosa independientes por cada cepa mediante el método indirecto de agar rojo Congo. Dichos ensayos se realizaron a 25, 30 y 37 ± 0,5 °C durante 48 y 72 horas de incubación. Todas las cepas estudiadas mostraron capacidad de sintetizar celulosa en al menos una de las condiciones estudiadas. Los resultados mostraron una producción de celulosa significativamente superior a mayores temperaturas y a tiempos de incubación superiores; siendo la condición de 25 °C/48 h en la que la práctica totalidad de las cepas no mostraron producción de celulosa y 37 °C/72 h en la que todas mostraron producción.

05. Revelando el mecanismo de acción de los factores de ensamblaje de ribosoma universalmente conservados que determinan la aptitud de las bacterias y la resistencia a los antibióticos.

Xu Han¹, Borja Ochoa-Lizarralde², Sean R Connell^{1,3}, Paola Fucini^{3,4}

¹Structural Biology Unit, BioCruces Bizkaia, Barakaldo. ²Basque Center for Biophysics (CSIC-UPV/EHU), Leioa. ³IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao. ⁴Research Centre for Experimental Marine Biology and Biotechnology, Plentzia Marine Station (PiE-UPV/EHU), Plentzia.
E-mail de contacto: pfucini@gmail.com / sean.connell@gmail.com

El ribosoma es una máquina macromolecular compleja cuya biogénesis depende de docenas de factores de ensamblaje que desempeñan funciones importantes en el plegamiento, el procesamiento y la modificación química del ARN ribosómico (ARNr). A pesar de la creciente cantidad de datos recopilados, el papel exacto de la mayoría de los factores de ensamblaje y los detalles mecánicos de su operación siguen sin estar claros y aún falta información estructural de alta resolución.

Para ampliar nuestra comprensión de los mecanismos de acción de KsgA, un factor de ensamblaje de ribosomas que se conserva de manera ubicua en todas las especies de eubacterias, arqueobacterias, eucariotas y orgánulos eucariotas, hemos aislado partículas ribosómicas 30S inmaduras de una cepa de *Escherichia coli* que carece del gen KsgA (Δ KsgA) y las hemos incubado con dos factores de ensamblaje, RbfA y RimP, que funcionan en conjunto con KsgA, para generar un complejo representativo de la última fase del ensamblaje de ribosomas.

Este complejo se caracterizó mediante single-particle cryo-electron microscopy para comprender los detalles mecánicos de la reacción de metilación de KsgA. Nuestro análisis preliminar vuelve a nivelar dos clases prominentes de complejos moleculares, una en la que solamente KsgA se une a la subunidad 30S (2,8 Å) y otra en la que KsgA se une a la subunidad 30S junto con RimP (2,7 Å).

Estas estructuras de alta resolución revelan detalles de la reacción de metilación de KsgA y cómo KsgA promueve la maduración de los ribosomas. Comprender las reacciones de metilación de KsgA es importante ya que estas modificaciones se conservan en todos los organismos y, en las bacterias, determinan la aptitud bacteriana y los mecanismos de resistencia a los antibióticos.

O6. Detección de patógenos en aguas residuales: un nuevo sistema más rápido y versátil.

Irena Fernández Montiel

*Promega Biotech Iberica, Alcobendas, Madrid.
E-mail de contacto: irena.fernandez@promega.com*

La epidemiología basada en las aguas residuales (WBE, del inglés, wastewater-based epidemiology) es el análisis de las aguas residuales para identificar la presencia de agentes biológicos o químicos con el fin de monitorizar la salud pública. Se ha utilizado previamente para detectar la presencia de residuos farmacéuticos o industriales, fármacos, virus y la aparición potencial de bacterias resistentes a antibióticos. Estudios recientes han demostrado que la detección del coronavirus SARS-CoV-2 en las aguas residuales puede ser una solución de bajo coste para el seguimiento de los brotes de COVID-19 ⁽¹⁾. Los métodos actuales para detectar virus en aguas residuales requieren de etapas diferenciadas de concentración viral y extracción de ARN, que pueden tardar más de 8 horas en completarse y que pueden generar resultados poco consistentes. En este trabajo se presenta un método único de captura directa que combina las etapas de concentración del virus, extracción y purificación (clean-up) del ARN para reducir considerablemente el tiempo de procesamiento de las muestras. Esta tecnología puede ser también aplicada en otros patógenos prevalentes (*Legionella* spp, Norovirus, Virus de la Hepatitis, Enterovirus) y otras amenazas para la salud pública como la resistencia a antibióticos.

¹ Mondal, S., *et al.* A direct capture method for purification and detection of viral nucleic acid enables epidemiological surveillance of SARS-CoV-2. *Sci Total Environ.* 2021 Nov 15;795:148834.

O7. Asociación entre altos niveles de interferón- γ en respuesta a la tuberculina aviar y genes candidatos implicados en necroptosis y agregación plaquetaria.

Gerard Badia-Bringué¹, María Canive¹, Patricia Vázquez¹, Joseba M Garrido¹, Ramón A. Juste¹, Almudena Fernandez², Oscar Gonzalez-Recio^{2,3}, Marta Alonso-Hearn¹

¹ *Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

² *Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid.*

³ *Departamento de Producción Agraria, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid.*

E-mail de contacto: gbadia@neiker.eus

La inhibición de la apoptosis es uno de los mecanismos utilizados por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) para sobrevivir en los macrófagos del hospedador. Durante la infección, los linfocitos Th1 secretan interferón- γ (IFN- γ) el cual promueve la activación y reclutamiento de nuevos macrófagos al sitio de infección con la consiguiente producción de citoquinas pro-inflamatorias, IL12 y TNF- α . La respuesta inmune de tipo celular es clave en el control de las infecciones intracelulares como la causada por MAP, por lo que es posible que aquellos animales capaces de inducir mayores niveles de IFN- γ controlen mejor la infección. En este estudio, utilizamos medidas de producción de IFN- γ en respuesta al derivado proteico purificado (PPD) aviar en sangre de 152 vacas frisonas y los genotipos de estos animales imputados a secuencia completa para realizar un estudio de asociación genética. El análisis permitió determinar que la producción de IFN- γ medida con un ELISA específico (Bovigam, Prionics) está asociada a la genética del animal (Heredabilidad=0,69) e identificar un total de 71 polimorfismos (FDR \leq 0,05, $p < 5 \times 10^{-7}$), 40 loci y 101 genes candidatos asociados con altos niveles de IFN- γ . El análisis de enriquecimiento funcional realizado con los 101 genes candidatos reveló un enriquecimiento significativo ($p \leq 0,05$) de la necroptosis (PLA2G4E/PLA2G4D/PLA2G4F/TRAF5/SLC25A6/MAPK9) y agregación plaquetaria (PLA2G4E/PLA2G4D/PLA2G4F/SNAP23/PRKG1) con 6 y 4 genes implicados en cada ruta, respectivamente. Estos resultados permiten definir un perfil inmunogenético específico asociado a los animales capaces de producir altos niveles de IFN- γ y de lisar el macrófago infectado liberando MAP al medio extracelular mediante necroptosis (necrosis programada).

O8. Mejora de las bacterias magnetotácticas como agentes teragnósticos mediante la incorporación de terbio y gadolinio.

Lucía Gandarias¹, Elizabeth M. Jefremovas^{2,3}, David Gandia⁴, Lourdes Marcano^{5,6,7}, Virginia Martínez-Martínez⁸, Pedro Ramos-Cabrer⁹, Sergio Valencia⁷, Luis Fernández-Barquín², M^aLuisa Fdez-Gubieda^{4,6}, Javier Alonso², Ana García-Prieto¹⁰, Alicia Muela¹

¹Dpto. Inmunología, Microbiología y Parasitología, UPV/EHU, Leioa; ²CITIMAC, Universidad de Cantabria, Santander; ³Institute of Physics, Johannes Gutenberg University, Mainz (Alemania); ⁴BCMaterials, Leioa; ⁵Dpto. Física, Universidad de Oviedo, Oviedo; ⁶Dpto. Electricidad y Electrónica, UPV/EHU, Leioa; ⁷Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie, Berlín (Alemania); ⁸Dpto Química Física, UPV/EHU, Leioa; ⁹CIC biomaGUNE, Donostia; ¹⁰Dpto. Física Aplicada, UPV/EHU, Bilbao.

E-mail de contacto: lucia.gandarias@ehu.eus

Las bacterias magnetotácticas son microorganismos acuáticos capaces de sintetizar una o varias cadenas de orgánulos magnéticos intracelulares denominados magnetosomas. Debido a su carácter magnético y sus propiedades de movilidad, las bacterias magnetotácticas son excelentes candidatas como agentes teragnósticos en tratamientos de hipertermia magnética [1], para el transporte guiado de medicamentos, o como agentes de imagen de resonancia magnética (MRI). El objetivo de este estudio es añadir nuevas funcionalidades a la bacteria magnetotáctica *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 sin alterar sus propiedades inherentes mediante el cultivo en medio suplementado con terbio y gadolinio [2]. Las bacterias crecidas en presencia de terbio presentan propiedades fotoluminiscentes bajo excitación UV (285 nm) con un pico de emisión máximo a 545 nm. Las bacterias crecidas en presencia de gadolinio presentan una capacidad de contraste dual en MRI, ya que conservan el contraste T2 propio de la magnetita, y añaden contraste T1 debido a la presencia de gadolinio. Por último, dadas las potenciales aplicaciones biomédicas de estas bacterias, hemos analizado su citotoxicidad en células de carcinoma de pulmón A549. Los resultados confirman que, como las bacterias control, las bacterias modificadas no afectan a la viabilidad ni a la capacidad de crecimiento de las células; es decir, son biocompatibles.

[1] D. Gandia, L. Gandarias et al., *Small*, 15 (2019) 1902626

[2] E.M. Jefremovas et al., *Nanoscale Adv.*, 4 (2022) 2649-2659

O9. Adaptación de una cepa clínica camboyana de *Plasmodium Falciparum* resistente a artemisinina en un modelo de ratón humanizado.

Pablo Díaz^{1,2}, Eider Salazar¹, Sandra Berja¹, Patricia Lorenzo¹, Hazel Gómez¹, Rebeca Sánchez¹, Judith Romero¹, Lara López¹, Gabriela Popescu¹, Elena Sevillano², Iñigo Angulo-Barturen¹ y María Belén Jiménez-Díaz¹

¹The Art of Discovery, Bilbao.

²Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería UPV/EHU, Bilbao.

E-mail de contacto: pablo.ds@tad-med.com

La malaria es una enfermedad parasitaria causada por protozoos del género *Plasmodium* que destruyen eritrocitos humanos. En 2020 se contabilizaron 241 millones de casos y 627 000 muertes, el 90 % de las cuales ocurrieron en niños menores de 5 años y mujeres embarazadas en África subsahariana. Desde 2001, las combinaciones de artemisinina con un segundo antipalúdico es el tratamiento recomendado para malaria no complicada. Sin embargo, desde 2007 se han descrito casos de resistencia a artemisinina en Asia, y, recientemente, en África.

El modelo de malaria humana por *Plasmodium falciparum* en ratones NODscidIL2Rgcnll (NSG) injertados con eritrocitos humanos permite una cuantificación precisa del número de parásitos que circulan en sangre. En The Art of Discovery hemos adaptado una cepa clínica de *P. falciparum* de origen camboyano (Pf7039) con la mutación C580Y en el dominio Kelch, asociada con resistencia a artemisinina. En un ensayo de 4 días de tratamiento oral con diferentes dosis de dihidroartemisinina (8, 25, 50 y 100 mg/kg), Pf7039 mostró una mayor sensibilidad que la cepa susceptible Pf3D7^{0087/N9} para las dosis no curativas de 8, 25 y 50 mg/Kg. Sin embargo, la dosis de 100 mg/kg, siendo curativa para la cepa Pf3D7^{0087/N9}, no lo fue para la Pf7039. Estos datos sugieren que el fenotipo de resistencia a artemisinina es complejo desde un punto de vista farmacocinético/farmacodinámico.

La metodología de adaptación ofrece la posibilidad de estudiar el impacto de la diversidad genética de *P. falciparum* de diferentes regiones geográficas en la eficacia terapéutica de nuevos tratamientos antimaláricos.

O10. Protección no específica frente a formas graves de COVID-19 por vacunación contra fiebre tifoidea.

Ramón A. Juste^{1,2}, Kalliopi Vrotsou^{3,4,5}, Maider Mateo^{4,5}, Arritxu Etxeberria⁶, María A. Gutiérrez-Stampa^{5,6}, Rafael Rotaetxe⁶, Itziar Vergara^{4,5}, Luis Bujanda⁷

¹*Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

²*NySA-SERIDA.*

³*AP-OSis Research Unit Gipuzkoa, Osakidetza. Pº Dr. Beguiristain, s/n 20014 San Sebastián/Donostia.*

⁴*Biodonostia Health Research Institute.*

⁵*Red de Investigación en Cronicidad, Atención Primaria y Promoción de la Salud (RICAPPS).*

⁶*Alta Primary Care Health Center, OSI Donostialdea; Biodonostia Health Research Institute, 20014 San Sebastián.*

⁷*Department of Gastroenterology. Biodonostia Health Research Institute. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Universidad del País Vasco (UPV/EHU). San Sebastián/Donostia.*

E-mail de contacto: rjuste@neiker.eus

Una protección no-específica del tipo inmunidad aprendida (TRAIM) ha sido postulada para la vacunación con BCG y confirmada con difteria. Nosotros propusimos que una vacuna que se hubiese aplicado más cerca de la exposición a SARS-CoV2 podría mostrar una protección más potente. Para ello extrajimos datos agregados de infección y mortalidad general entre marzo de 2020 y junio de 2021 en relación con registros de vacunación contra fiebre tifoidea (TFV, n=13673) y difteria (DV, n=42997) en los 5 años anteriores al brote de COVID-19 del sistema vasco de salud (Osakidetza). TFV mostró una fuerte asociación con una reducción negativa de la infección por SARS-CoV2 (OR 1.47 95 CI 1.37-1.57; $p > 0.0001$; reducción -41.2%), pero positiva en hospitalización (OR 0.30 95% CI 0.20-0.46; reducción 63.6%) y muerte por COVID-19 (OR 0.03 95% CI 0.00-0.20; reducción 93.7%) en el conjunto de la población. DV mostró tendencias similares, pero a un nivel inferior. Estos resultados observacionales sugieren que la TFV puede haber mejorado el resultado de la infección por SARS-CoV2, a pesar de haberse asociado con tasas superiores de infección. Entendemos que TFV tiene un potencial para ser una vía barata, segura y fácilmente disponible para conferir protección no específica de tipo TRAIM frente a formas graves de futuras nuevas infecciones. Más investigación en condiciones más controladas es necesaria para consolidar este concepto y finalmente darle una utilidad práctica.

O11. Identificación, detección de genes de resistencia de betalactamasas y tipado molecular de *Klebsiella pneumoniae* a partir de hemocultivo mediante secuenciación masiva.

Juan Carlos Forero Niampira¹, Mikel Urrutikoetxea-Gutiérrez², **Matxalen Vidal-García**², Jose Luis Díaz de Tuesta del Arco²

¹Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco, Bilbao.

²Servicio de Microbiología y Parasitología clínica, Hospital Universitario Basurto, Bilbao, Grupo de Microbiología y Control de Infección, BioCrucesBizkaia, Barakaldo.

E-mail de contacto: matxalen.vidalgarcia@osakidetza.eus

Introducción: las bacteriemias (presencia de bacterias en sangre), son infecciones graves en las que el tiempo para obtener un diagnóstico etiológico y de mecanismos de resistencia antimicrobiana constituye un elemento fundamental en el adecuado tratamiento de los pacientes.

Objetivo: valorar la capacidad de la secuenciación masiva a tiempo real para la identificación bacteriana, detección de genes de resistencia y tipado molecular a partir de hemocultivo positivo a diferentes horas.

Material y métodos: se analizaron 9 hemocultivos (frasco BD Bactec Anaerobic/Lytic) inoculados con aislados de *K. pneumoniae* productores de beta-lactamasa. La extracción de DNA se realizó mediante MagnaPure Compact, la secuenciación mediante MinIon (Oxford Nanopore Technologies) y el análisis de secuencias mediante bases de datos como Epi2Me, Resfinder, MLSTfinder y Pathogenwatch.

Resultados: la identificación de especie se pudo realizar en menos de una hora con Epi2ME y en tan solo 3 horas se identificaron genes de resistencia relevantes, el secuenciotipo de las bacterias analizadas se obtuvo entre 3 y 6 horas. Estos datos eran comparables a los de la secuenciación a tiempo final (24 horas).

Conclusión: la secuenciación masiva con MinIon permite identificar bacterias en hemocultivo en tan solo una hora. La detección de genes de resistencia es más fiable cuando se usan datos de 3 horas de secuenciación. Son necesarios estudios en muestras clínicas de pacientes, así como estudios de utilidad clínica previo a su implementación en microbiología clínica.

O12. Jelleinas: péptidos antifúngicos para el tratamiento de las infecciones por *Candida auris* y otras especies emergentes de *Candida*.

Aitzol Perez-Rodriguez, Iván Laviada-Pérez, Blanca Elena Martínez-Estrella, Eneko Largo, Guillermo Quindós, Estibaliz Mateo, Elena Eraso

*Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología (GIC21/24 IT-990-16), Facultad de Medicina y Enfermería. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa.
E-mail de contacto: ikaitzoperez@gmail.com / estibaliz.mateo@ehu.eus*

Las candidiasis son las micosis oportunistas más frecuentes y, aunque *Candida albicans* sigue siendo el agente etiológico predominante, son cada vez más frecuentes otras especies que presentan una sensibilidad reducida a los fármacos antifúngicos habituales. Las jelleinas, presentes en la jalea real de la abeja *Apis mellifera*, son una familia de cuatro péptidos de una longitud de entre 8 y 9 aminoácidos con actividad antimicrobiana. Este trabajo se centra en el estudio de la actividad antimicrobiana del péptido jelleina-II y de derivados del mismo contra *Candida*. Se determinó *in vitro* la sensibilidad de 14 aislamientos clínicos de las especies *C. albicans*, *Candida auris*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* y *Candida krusei* a concentraciones de péptido entre 8 y 128 μM . Se analizó la toxicidad de los péptidos más activos tanto *in vitro* controlando su actividad hemolítica, como *in vivo* en el modelo animal de *Galleria mellonella*. Se realizaron curvas de letalidad para el derivado del péptido denominado R1 a concentraciones 32, 64, 128 y 256 μM contra *C. albicans* y *C. auris*. El péptido jelleina-II y tres derivados presentaron actividad contra todos los aislamientos a concentraciones entre 32 y 128 μM . Ninguno de los péptidos ensayados mostró toxicidad *in vitro* ni *in vivo*. El péptido R1 mostró actividad fungicida a las concentraciones 128 y 256 μM contra ambas especies, siendo más eficaz contra *C. albicans* ya que se detectó una actividad fungicida en un menor tiempo. En conclusión, estos péptidos son compuestos antifúngicos prometedores por su baja toxicidad y su actividad contra *Candida*.

Sesión 2. Amiloides bacterianos como puntos de inflexión del desarrollo de enfermedades neurodegenerativas.

Jaione Valle

*Instituto de Agrobiotecnología Mutilva, Navarra.
E-mail de contacto: jaione.valle@csic.es*

Estudios recientes han reconocido que los amiloides bacterianos son elementos funcionales y estructurales de la matriz extracelular del biofilm de muy diversas bacterias. El biofilm formado por la microbiota del tracto intestinal es uno de los más abundantes del cuerpo humano y, como tal, produce una enorme cantidad de amiloides. En este escenario, tiene lugar una compleja interacción entre el sistema inmune del huésped y los amiloides bacterianos que, bajo condiciones específicas, pueden provocar patologías relacionadas con el mal plegamiento de determinadas proteínas. En esta investigación proponemos que la disbiosis en el amiloma (amiloides de la microbiota intestinal) causada por bacterias patobiontes (bacterias residentes de la microbiota con potencial patógeno) puede actuar como un factor desencadenante de enfermedades neurodegenerativas. Utilizando las proteínas BAP como modelo de amiloides funcionales y los trastornos neurodegenerativos relacionados con el mal plegamiento de proteínas como modelo de enfermedad, hemos estudiado la interrelación entre los amiloides bacterianos y enfermedad. Para ello, en primer lugar, se ha determinado la composición de amiloides tipo BAP de la microbiota gastrointestinal. En segundo lugar, se ha analizado si los amiloides tipo BAP pueden iniciar o acelerar la polimerización de proteínas amiloides humanas utilizando modelos de agregación de α -sinucleína en neuronas motoras en cultivo y en el nematodo *Caenorhabditis elegans*. Finalmente, hemos determinado que la inoculación de amiloides tipo BAP en el cerebro de ratones, induce patología cerebral, provocando deficiencias de orientación y coordinación en los ratones.

Sesión 3. Bacterias para mejorar la salud humana en un entorno sostenible.

Patricia Ruas Madiedo

Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA)

E-mail de contacto: ruas-madiedo@ipla.csic.es.

El conocimiento de la microbiota de un determinado ecosistema nos permite identificar microorganismos que participan activamente en el mantenimiento de su homeostasis. La caracterización del microbioma de alimentos fermentados y del microbioma intestinal humano ha permitido determinar la presencia de bacterias con posibles efectos beneficiosos. El aislamiento y caracterización de bacterias específicas para su aplicación en salud ha generado una serie de conceptos que contienen el sufijo “biótico”. La aplicación de estrategias de intervención dietética con bacterias vivas, o probióticos, es un área de gran interés actual. Son varios los mecanismos de acción descritos como, entre otros, la exclusión competitiva con patógenos, la producción de nutrientes (vitaminas como la riboflavina) o la síntesis de compuestos neuroactivos (por ejemplo, ácido γ -aminobutírico, GABA). El mecanismo de acción va a determinar la elección de una determinada cepa(s) probiótica(s) para su aplicación en el ámbito de la nutrición personalizada. En algunos casos son moléculas o componentes de las bacterias los responsables del efecto positivo, por lo que no sería necesario mantener la viabilidad en el alimento/suplemento o durante el tránsito gastrointestinal. Ésta sería la base del concepto postbiótico que ha surgido en los últimos años. Además, la actividad de bacterias sobre los componentes de un alimento o un subproducto alimentario, como el suero lácteo generado durante la elaboración del queso, puede generar moléculas con actividad biológica de interés; por ejemplo, los péptidos bioactivos encriptados en la proteína láctea. Este sería un ejemplo de aplicación de las bacterias para mantener la circularidad y sostenibilidad de la cadena alimentaria.

O13. Capacidad inmunomoduladora del floroglucinol, un metabolito derivado de la microbiota, en la inflamación crónica.

Janire Castelo¹, Diego Barriales¹, Ainize Peña-Cearra^{1,2}, Ainhoa Palacios¹, Estibaliz Atondo¹, Sam T. Pasco¹, Sarai Araujo-Aris¹, Itziar Martín-Ruiz¹, Naiara Gutiez¹, Iratxe Seoane^{1,2}, Leticia Abecia^{1,2}, Juan Anguita^{1,3}, Héctor Rodríguez¹

¹*Inflammation and Macrophage Plasticity lab, CIC bioGUNE-BRTA (Basque Research and Technology Alliance), Derio.*

²*Department of Immunology, Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine and Nursing, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa.*

³*Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbao.*

E-mail de contacto: jcastelo@cicbiogune.es

La ingesta elevada de compuestos fenólicos a través de la dieta se ha relacionado con una menor incidencia de enfermedades inflamatorias crónicas. Entre los compuestos fenólicos, los galotaninos y sus metabolitos microbianos apenas han sido estudiados. En función de la composición de la microbiota individual, las bacterias intestinales pueden degradar estos compuestos de diferente forma, dando como resultado distintos metabolitos con capacidad de modificar la composición de la microbiota y/o modular la respuesta inmune. Uno de los metabolitos resultantes de esta transformación de galotaninos, el floroglucinol (PG), se ha utilizado como tratamiento del Síndrome del Intestino Irritable, aunque su modo de acción aún no está claro. En este trabajo, hemos estudiado la capacidad del PG para modular la respuesta inmune. Nuestra investigación, utilizando estudios *in vitro* y modelos murinos de inflamación, explora sus propiedades como modulador de la respuesta inmune innata y su capacidad de modificar la microbiota. Nuestro trabajo describe como este compuesto es capaz de atenuar la enfermedad inflamatoria intestinal en el ratón, modificando la microbiota hacia una configuración antiinflamatoria. Además, hemos demostrado como la respuesta de los macrófagos a patógenos proinflamatorios, se ve influenciada a corto y largo plazo (entrenamiento innato inmune) por la presencia del PG y compuestos fenólicos relacionados tanto en experimentos *in vitro* como en ratones a los que se les administró el compuesto.

O14. El organismo, una desconocida autopista bacteriana.

Jose Luis Lavín^{1*}, Aize Pellón², Sarai Varona³, Leticia Abecia⁴, Carlos Garbisu⁵, Juan Anguita⁶, Hector Rodriguez⁶

¹*Departamento de Matemática Aplicada, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

²*Centre for Host-Microbiome Interactions, Faculty of Dentistry, King's College London, UK.*

³*Unidad de Bioinformática, Instituto de Salud Carlos III, Madrid.*

⁴*Department of Immunology, Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine and Nursing, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa.*

⁵*Departamento de Conservación de Recursos Naturales, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

⁶*Inflammation and Macrophage Plasticity Lab, CIC bioGUNE-BRTA, Derio.*

E-mail de contacto: jllavin@neiker.eus

Según el dogma de la esterilidad, en individuos sanos, la presencia de bacterias dentro del cuerpo humano debería estar limitada a unos pocos nichos, sin embargo, diferentes evidencias apuntan a la posibilidad de que las bacterias, a través del proceso de translocación, se asienten en nichos corporales distantes, previamente considerados estériles; pudiendo tener implicaciones importantes para la salud del hospedador. Por ejemplo, cuando los patógenos orales colonizan el intestino se consideran un factor de riesgo en trastornos como la Enfermedad Inflamatoria Intestinal o el cáncer colorrectal, lo que pone el foco en los mecanismos de translocación boca - intestino.

Una posibilidad es que determinadas bacterias puedan utilizar las células inmunitarias como vehículo de su deslocalización, y para ello, es clave poder sobrevivir dentro de estas. Dicha capacidad de supervivencia, similar a la de ciertos patógenos intracelulares, podría estar determinada por un perfil genético. Hemos seleccionado un set de genes de las categorías Inmunomodulación, Resistencia al estrés, Invasión y Sistema de liberación de efectores, de la Virulence Factor Database (VFDB), en base a cuya presencia/ausencia (mediante análisis de ortologías) generar un modelo de Inteligencia Artificial con capacidad para predecir la capacidad de supervivencia intracelular y/o translocación.

O15. La conjugación como herramienta de ingeniería genética: uso de relaxasas como vehículo de envío de ADN y proteínas.

Dolores L. Guzmán-Herrador¹, Sara Samperio¹, Andrea Fernández-Gómez¹, Silvia Calero¹, Miguel A. Álvarez², David Bikard³, Matxalen Llosa^{1*}

¹Departamento de Biología Molecular, Universidad de Cantabria (UC), Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC), UC – CSIC – SODERCAN, Santander, España.

²Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Villaviciosa, España.

³Instituto Pasteur, Paris, Francia.

E-mail de contacto: matxalen.llosa@unican.es

La conjugación bacteriana es un mecanismo de transferencia horizontal de genes muy promiscuo que permite el envío de ADN a muchos tipos distintos de células receptoras de una manera sencilla. En nuestro laboratorio estamos implementando el uso de este mecanismo para la modificación genética de bacterias que son muy difíciles de transformar y con un gran potencial biotecnológico como son diferentes bacterias del ácido láctico. Hemos conseguido introducir plásmidos por conjugación en estirpes de lactobacilos y bifidobacterias para las que no existía ningún método de modificación genética dirigida.

Durante la conjugación, la relaxasa es la proteína encargada del procesamiento del ADN, es reclutada por el Sistema de Secreción Tipo IV (SST4) y translocada covalentemente unida a una molécula de ADN a la célula receptora. En el laboratorio proponemos el uso de relaxasas como vehículos para enviar cualquier péptido fusionado a ellas a una célula receptora durante la conjugación. Hemos desarrollado un sistema de envío *in vivo* de sistemas CRISPR-Cas a la célula diana fusionando la relaxasa TrwC, del plásmido R388 con la proteína Cas12a. Hemos demostrado que la fusión mantiene su actividad relaxasa y endonucleasa, que es reclutada por el SST4 y que es translocada en la célula receptora, donde conserva su actividad. Para demostrar que el uso de relaxasas como vehículos se puede extender a otros sistemas, hemos fusionado TrwC con un editor de bases. En resumen, demostramos que se pueden enviar sistemas de modificación genética basados en las herramientas CRISPR-Cas mediante conjugación a cualquier potencial célula receptora.

O16. Bacterias probióticas modulan la respuesta inmunitaria a la vacunación frente a paratuberculosis.

Maddi Oyanguren¹, Elena Molina¹, Maitane Mugica¹, Ainara Badiola¹, Miguel Fuertes^{1,2}, Iraia Ladero¹, Natalia Elguezabal¹

¹Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

²Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, León.

E-mail de contacto: moyanguren@neiker.eus

La paratuberculosis (PTB) es una enteritis granulomatosa de distribución mundial causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) que afecta mayoritariamente a rumiantes, aunque también se ha asociado con la Enfermedad de Crohn en humanos. Las vacunas actuales no confieren protección absoluta, existiendo una necesidad de desarrollar terapias alternativas. En este trabajo, hemos evaluado el efecto de un probiótico en combinación con la vacunación en un modelo de desafío con Map en conejos.

Los tratamientos administrados previos al desafío oral con Map fueron: una vacuna de Map inactivada comercial, la misma vacuna en combinación con el probiótico, el probiótico sólo y un grupo no tratado. La producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), actividad bactericida de los neutrófilos y los niveles específicos de anticuerpos fueron evaluados como indicadores de inmunomodulación, mientras que la carga bacteriana y lesiones en tejidos fueron los parámetros indicativos de eficacia. El grupo que recibió solamente la vacuna mostró la actividad ROS más alta siendo mantenida 90 días post vacunación. Además, los neutrófilos de este grupo mostraron un incremento de la actividad microbiocida. Por otro lado, los grupos tratados con el probiótico mostraron lesiones generalizadas y mayores cargas bacterianas, sugiriendo bajos niveles de protección. Estos resultados indican que el probiótico administrado a los animales vacunados fue capaz de modular la respuesta inmunitaria, afectando a la protección. Este trabajo demuestra que la administración de un probiótico puede afectar la eficacia de la vacunación, resaltando aún más la importancia de las bacterias intestinales en la inmunidad frente a PTB.

O17. El primer medicamento biológico basado en microbiota intestinal ¿mito o realidad?

Celia Morales

Mikrobiomik Healthcare Company, S.L.

E-mail de contacto: cmorales@mikrobiomik.net

Mikrobiomik aspira a ser la primera Compañía mundial que, comercializa en la UE, el primer medicamento biológico basado en microbiota intestinal en la infección primaria o recurrente por *Clostridiodes difficile* a través de la administración en una toma única de 4 cápsulas de microbiota fecal liofilizada con tecnología FSPIM^R (*full spectrum & purified intestinal microbiota*) Mikrobiomik tiene en marcha un ensayo clínico fase III aleatorizado, controlado y abierto, en 21 hospitales a nivel nacional, en pacientes con infección primaria o recurrente por *Clostridiodes difficile*, para evaluar la eficacia y seguridad de su medicamento biológico en investigación MBK-01 (cápsulas FSPIM^R, *full spectrum & purified intestinal microbiota*) vs fidaxomicina. Se trata del primer ensayo clínico, a nivel mundial, de un medicamento basado en microbiota intestinal, que incluye pacientes con episodio primario y que se compara frente a un comparador activo *gold standard*, la fidaxomicina, y no frente a placebo.

Mikrobiomik fabrica bajo condiciones GMP (*Good Manufacturing Practices*) en sus instalaciones certificadas por la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) del Parque Tecnológico de Derio, autorizadas para la distribución de MBK-01 a nivel europeo bajo el estatus de medicamento biológico en investigación, exclusivamente a ensayos clínicos propios o de terceros.

O18. Marcadores microbiológicos como herramienta para determinar el origen geográfico del mejillón Mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*) cultivado.

Ane del Rio-Lavín¹, Sébastien Monchy², Elisa Jiménez¹, **Miguel A. Pardo**¹

¹AZTI, Food Research, Basque Research and Technology Alliance (BRTA). Parque Tecnológico de Bizkaia, Astondo Bidea, Edificio 609, 48160 Derio, Bizkaia, Spain.

²Univ. Littoral Côte d'Opale, CNRS, Univ. Lille, UMR 8187, LOG, Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences, F-62930 Wimereux, France.

E-mail de contacto: mpardo@azti.es

Identificar la procedencia de los productos pesqueros es fundamental para combatir el fraude comercial, cumplir con las normas trazabilidad alimentaria y garantizar la seguridad de los consumidores. Por ello, el presente estudio tuvo como objetivo determinar si la composición bacteriana presente en la glándula digestiva de los mejillones *M. galloprovincialis* podría utilizarse como herramienta para identificar su origen geográfico. Para ello, se analizó la microbiota de 160 mejillones recogidos estacionalmente en 2019, que habían sido cultivados en tres regiones diferentes de España (Galicia, País Vasco y Cataluña). El análisis de la microbiota se llevó a cabo mediante la secuenciación masiva de las regiones variables V3-V4 del gen 16S ARNr. Los resultados mostraron que el perfil bacteriano era significativamente diferente entre los lugares de recolección y las estaciones, siendo el efecto generado por el origen superior a la variabilidad estacional. Para evaluar la estabilidad y el potencial de esta herramienta, se comparó el perfil bacteriano obtenido de 20 nuevos individuos recogidos en el País Vasco en otoño de 2020, que habían sido procesados, secuenciados y analizados de forma independiente, con los perfiles obtenidos en 2019. Los resultados mostraron que los mejillones recogidos en el País Vasco en dos años consecutivos se agrupaban juntos, incluso coincidiendo con la temporada de recolección. Nuestros resultados apoyan que esta metodología tiene el potencial de trazar el origen geográfico de los mejillones no procesados y podría tener potencial para la trazabilidad de los productos pesqueros.

O19. Permanencia de *Vibrio* spp. en ambientes acuáticos.

Arkaitz Almaraz¹, Sofía Miranda¹, Elixabet Ogayar¹, Beñat Zaldibar^{2,3}, Inés Arana^{1,3}, Maite Orruño^{1,3}

¹Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Leioa.

²Departamento de Zoología y Biología Celular Animal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Leioa.

³Plentziako Itsas Estazioa. Estación Marina de Plencia (PIE-UPV/EHU).

E-mail de contacto: maite.orruno@ehu.eus / arkaitz.almaraz@ehu.eus

Las bacterias del género *Vibrio*, que incluye especies patógenas para humanos y animales, son habitantes ubicuos de los ecosistemas acuáticos, con formas de vida planctónica o adherida.

Para comprobar el impacto de los cambios ambientales en la adaptación de *Vibrio* spp., se han determinado los patrones de supervivencia de diversas especies frente al efecto de las variaciones de temperatura, salinidad y radiación visible; así como en presencia de poblaciones microbianas autóctonas.

Además, para determinar la capacidad de colonizar invertebrados marinos, que pueden actuar como reservorios, hemos establecido un sistema utilizando *Mytilus galloprovincialis* y *Crassostrea angulata* como hospedadores, y una cepa de *Vibrio harveyi* que expresa la proteína GFP (*V. harveyi gfp*), para monitorizar la interacción entre estos organismos. Para ello, bivalvos recogidos en el estuario de Plentzia, tras su aclimatación, se transfirieron a tanques conteniendo agua (de mar/estuarina) esterilizada e inoculada con *V. harveyi gfp*, y se incubaron en diferentes condiciones de temperatura y salinidad. Periódicamente, los bivalvos se recogieron y diseccionaron para obtener muestras de branquias, gónadas y glándulas digestivas para la cuantificación de *V. harveyi* y análisis histológicos. Se enumeraron las células de *V. harveyi* en agua y heces. Los resultados obtenidos mostraron que *V. harveyi* alcanzó, en pocos minutos, su máxima densidad en los órganos de *M. galloprovincialis*, donde se mantuvo durante horas o días. Posteriormente, la densidad bacteriana en los órganos disminuyó progresivamente, sin llegar a eliminarse tras 5 días y comenzó a detectarse en las heces. Resultados preliminares sugieren para las ostras un comportamiento similar.

O20. Una nueva estrategia de selección de mutantes de *Weissella cibaria* sobreproductores de riboflavina con utilidad potencial en la industria alimentaria.

Iñaki Diez-Ozaeta^{1,2}, Mari Luz Mohedano², José Ángel Ruiz-Masó², Gloria del Solar², Annel M. Hernández-Alcántara¹, Rosana Chiva³, Pasquale Russo⁴, Mercedes Tamame³, Paloma López^{2*}, M^a Teresa Dueñas¹

¹Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), San Sebastián.

²Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC). Madrid.

³Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), CSIC-Universidad de Salamanca.

⁴Department of Agriculture Food Natural Science Engineering, University of Foggia, Italy.

E-mail de contacto: plg@cib.csic.es / mariateresa.duenas@ehu.eus

El aislamiento y caracterización de bacterias del ácido láctico productoras de metabolitos de interés es una estrategia prometedora para la innovación en la industria alimentaria. Entre otros, las vitaminas del grupo B y los exopolisacáridos tipo dextrano destacan por sus numerosas propiedades funcionales. Previamente, nuestro consorcio caracterizó tres nuevas cepas de la especie *Weissella cibaria* productoras de riboflavina (vitamina B₂) y dextrano aisladas de masa madre de centeno. Por crecimiento de las cepas parentales bajo concentraciones crecientes de roseoflavina (un análogo tóxico de la riboflavina) se obtuvieron tres mutantes sobreproductores de esta vitamina (3,2-4,5 mg/L) que se validaron para biofortificar *in situ* panes experimentales con riboflavina y dextrano. En este trabajo se ha desarrollado una nueva estrategia experimental para la selección *in vitro* e *in silico* de mutantes espontáneos de *W. cibaria* sobreproductores de riboflavina. Tras la detección de diez mutaciones, la selección de ocho y el aislamiento de los mutantes más prometedores, la evaluación de riboflavina mostró una gran diversidad en la capacidad productora de los mutantes (de 0,80 a 6,50 mg/L) respecto a las cepas parentales (0,15 mg/L). Además, la cepa más prometedora se evaluó para obtener bebidas vegetales experimentales enriquecidas en riboflavina. En conclusión, la nueva estrategia metodológica permite seleccionar mutantes espontáneos de *W. cibaria* sobreproductores de riboflavina y productores de dextrano. Así mismo, este estudio refuerza el potencial de *W. cibaria* para su uso en la industria alimentaria, donde aún no ha sido utilizado como cultivo iniciador o adjunto.

O21. Bacteriófagos contra bacterias no deseadas en el sector agroalimentario.

María Lavilla, Elisa Jiménez, Estibaliz Ruiz, Cristina García, Vasco Martins, Amaia Lasagabaster

*AZTI Food Research, member of the Food Research, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio.
E-mail de contacto: mlavilla@azti.es, ejimenez@azti.es, eruiz@azti.es, cgarcia@azti.es, alasa@azti.es*

En la actualidad, tanto el alarmante desarrollo y propagación de la resistencia antibiótica, como las enfermedades zoonóticas de transmisión alimentaria, representan un problema global que afecta a la salud humana, la sanidad animal, la ganadería, la agricultura, la seguridad alimentaria y el medio ambiente. Esta situación hace patente la necesidad de investigar para el desarrollo de nuevas estrategias capaces de reducir la presencia de patógenos y otras bacterias no deseadas a lo largo de la cadena agroalimentaria (“de la granja a la mesa”). La utilización de nuevas herramientas basadas en la aplicación de bacteriófagos (fagos) se ha convertido en una alternativa prometedora a fin de garantizar un alto nivel de protección para los consumidores, las poblaciones animales y el medio ambiente desde una perspectiva “One Health”.

Para este trabajo contamos con una amplia colección de más de 500 fagos contra *Campylobacter* spp., *Listeria* spp. y *Vibrio* spp. A partir de esta colección, hemos realizado una caracterización de estos fagos, que nos ha permitido el diseño de diferentes fórmulas que han mostrado gran potencial para el biocontrol de estos patógenos en alimentos. Estudios preliminares en modelos animales, evidencian que se podría contribuir desde el origen a la mejora de la seguridad alimentaria, al reducir el riesgo de que estas bacterias pasen a los productos alimenticios finales por contaminaciones cruzadas que puedan ocurrir durante el sacrificio y/o el procesado posterior de los alimentos.

O22. Efecto del calentamiento global en la digestión extracelular de polímeros orgánicos en aguas superficiales costeras del Mar Cantábrico oriental.

Iñigo Azua^{1,2}, Zuriñe Baña^{1,2}, Naiara Abad³, Itxaso Artolozaga¹, Ainhoa Uranga¹, Marian Unanue¹, Iker Munarriz, Neil Baltasar, Ander Losada, Begoña Ayo^{1,2}

¹*Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología, Fac. Ciencia y Tecnología. Leioa.*

²*Centro de Investigación en Biología y Biotecnología Marinas Experimentales PIE-UPV/EHU. Plentzia.*

³*Centro Oceanográfico de las Islas Canarias, Instituto Español de Oceanografía IEO. Santa Cruz de Tenerife.*

E-mail de contacto: inigo.azua@ehu.eus

Las aguas superficiales costeras sufrirán un importante aumento de la temperatura en el actual proceso de calentamiento global del planeta. En este trabajo se ha investigado en aguas superficiales costeras del Mar Cantábrico oriental su efecto en la hidrólisis enzimática extracelular, que constituye la primera etapa de la degradación de los polímeros orgánicos en los sistemas marinos. El aumento de la temperatura del agua generó un incremento heterogéneo en las actividades hidrolíticas extracelulares leucina aminopeptidasa, fosfatasa alcalina y β -glucosidasa, responsables de la degradación de materia orgánica rica en N, P y C respectivamente. El análisis cinético de las tres actividades mostró la presencia de isoenzimas con alta afinidad por el sustrato, especialmente eficientes en sistemas con bajas concentraciones de sustrato como es la fase líquida, e isoenzimas con baja afinidad por el sustrato y funcionales en condiciones de alta concentración de sustrato, como pueden ser las partículas. Para las tres actividades, los isoenzimas de alta afinidad mostraron mayor sensibilidad a la temperatura que los de baja afinidad, lo que indica que el calentamiento tendrá consecuencias más evidentes en las condiciones ambientales caracterizadas por bajas concentraciones de polímeros disponibles. Respecto al tipo de actividad hidrolítica, se detectó la mayor sensibilidad a la temperatura en β -glucosidasa, mientras que leucina aminopeptidasa fue la menos sensible. Esta heterogeneidad en la respuesta al calentamiento predice cambios significativos en la relación C:N, C:P y N:P de los productos de hidrólisis, y por tanto, en la disponibilidad de estos nutrientes para el bacterioplancton.

Pósteres Biomedicina

P1. Las células de melanoma murino B16-F10 modifican su fenotipo hacia uno maligno tras el contacto con el hongo *Candida albicans*.

Leire Aparicio-Fernandez¹, Aitziber Antoran¹, Aize Pellon², Maialen Areitio¹, Leire Martin-Souto¹, Idoia Buldain¹, Aitor Rementeria¹, David L. Moyes², Andoni Ramirez-Garcia¹

¹Fungal and Bacterial Biomimics Research Group, Dept. Inmunología, Microbiología y Parasitología, Fac. Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU) Leioa, España.

²Centre for Host-Microbiome Interactions, Fac. of Dentistry, Oral & Craniofacial Science, King's College London, London, United Kingdom.

E-mail de contacto: leire.aparicio@ehu.eus

Candida albicans es un hongo patógeno oportunista que está presente de forma frecuente en diferentes zonas del cuerpo humano como la piel o la cavidad oral. No obstante, en los últimos años se ha relacionado con el desarrollo y progresión del cáncer a través de la producción de agentes carcinógenos o la promoción de un ambiente pro-metastático, entre otros. Sin embargo, el efecto directo de *C. albicans* sobre las células cancerosas, como células de melanoma, es algo controvertido que requiere mayor estudio. Por consiguiente, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto pro-metastático del hongo *C. albicans* sobre las células tumorales de melanoma. Para ello, se realizaron ensayos de migración y proliferación de células de melanoma murino B16-F10 estimuladas con *C. albicans*, que mostraron un aumento significativo de la proliferación, pero no de la migración. Asimismo, se detectó un aumento de la adhesión de estas células tumorales estimuladas a células hepáticas endoteliales sinusoidales (LSECs). Por último, se analizó el efecto del hongo en el metabolismo central de las células de melanoma mediante ensayos ECAR y RT-qPCR que mostraron un aumento de la glicólisis anaerobia (efecto Warburg) y otros procesos directamente relacionados con el cáncer y la metástasis. En conclusión, *C. albicans* es capaz de modificar el fenotipo de las células tumorales de melanoma hacia uno más agresivo y pro-metastático.

P2. La sobreexpresión de la *Catepsina G* está asociada a la resistencia a la paratuberculosis bovina.

María Canive, Gerard Badia-Bringué, **Marta Alonso-Hearn**

Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

E-mail de contacto: malonso@neiker.eus

El objetivo de este estudio es analizar el papel de la *CTSG*, una proteasa con capacidad bactericida, en el control de la paratuberculosis (PTB). Un estudio previo genómico-transcriptómico permitió identificar un polimorfismo (cis-eQTL-rs41976219) en el genoma de *Bos taurus* asociado con la expresión diferencial de mRNA codificante para la Catepsina G (*CTSG*) en muestras de sangre bovinas. En este estudio, los niveles de *CTSG* extracelular y la carga bacteriana intracelular se midieron en macrófagos derivados de monocitos (MDM) de sangre periférica de vacas de la raza Holstein con los genotipos AA (N= 5) y AC (N= 11) para el rs41976219 e infectados *ex vivo* con *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Los animales con el genotipo AC presentaban niveles de *CTSG* significativamente más altos a las 2 h. p. i. y menor carga bacteriana intracelular a los 7 d. p. i. en comparación con animales con el genotipo AA. La asociación entre las variantes alélicas del rs41976219 y la resistencia a la PTB se testó en una población mayor clasificada en función de la presencia (N= 442) o ausencia (N= 501) de lesiones asociadas a la PTB en tejido intestinal. Se observó que la presencia de los dos alelos menores en el rs41976219 (CC) era más frecuente en animales sin lesiones que en animales con lesiones de PTB (OR= 0.6). Finalmente, se demostró que los niveles de *CTSG* en el plasma de animales sin lesiones y con el genotipo CC(N=8) eran significativamente más altos que los de animales con los genotipos AA+AC (N=36).

P3. Caracterización del contexto genético de la tanasa implicado en la supervivencia del patógeno *Fusobacterium nucleatum*.

Naiara Gutiez¹, José Miguel Mancheño², Itziar Martín-Ruiz¹, Estíbaliz Atondo¹, Janire Castelo¹, Ainhoa Palacios¹, Sarai Araujo-Arís¹, Samuel T Pasco¹, Iratxe Seoane^{1,3}, Leticia Abecia^{1,3}, Héctor Rodríguez¹, Juan Anguita¹

¹*Inflammation and Macrophage Plasticity lab, CIC bioGUNE-BRTA (Basque Research and Technology Alliance), Derio.*

²*Departamento de Cristalografía y Biología Estructural, Instituto de Química-Física "Rocasolano" (IQFR-CSIC), Madrid.*

³*Department of Immunology, Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine and Nursing, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa.*

E-mail de contacto: janguita@cicbiogune.es

Fusobacterium nucleatum es un patógeno involucrado en la aparición y desarrollo del cáncer colorrectal. Esta bacteria dispone en su arsenal proteico de una enzima tanasa, capaz de detoxificar compuestos fenólicos, en concreto galotaninos, que son ingeridos en la dieta, presentes en alimentos como frutas y verduras. De esta forma, la tanasa supone un mecanismo de supervivencia para *F. nucleatum* en ambientes ricos en compuestos fenólicos, que le resultan tóxicos. Existen dos genes que se sitúan cerca del gen de la tanasa, llamados *FN0618* y *FN0621*, cuyas funciones, inicialmente predichas por homología de secuencia, estarían relacionadas con dos inhibidores de la tanasa descubiertos en el laboratorio, espermidina y ácido diaminobutírico. Esto indicaría la posible existencia de una conexión funcional de estos dos genes con la tanasa, no estudiada hasta ahora. En nuestro grupo se han utilizado diversas técnicas bioinformáticas, de biología molecular y de cristalografía para descifrar esta conexión entre los tres genes mencionados. Por un lado, se ha detectado una alta conservación del contexto genético de la tanasa en distintas especies de *Fusobacterium* y se han caracterizado las funciones de los genes *FN0618* y *FN0621* de forma experimental. Por otro, se han descubierto nuevos vínculos existentes no solo entre la tanasa y *FN0618* o *FN0621*, sino también entre estos dos últimos genes. Por último, se han hecho avances en cuanto a la posible expresión génica conjunta de estos tres genes, que podrían formar un operón. Todas estas evidencias respaldan la existencia de una conexión funcional relevante entre los tres genes.

P4. Caracterización de bacteriófagos dependientes de plásmido.

Yelina Ortiz¹, Maite Muniesa², Fernando de la Cruz¹ y Raúl Fernández-López¹

¹Departamento de Microbiología y Genómica, Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC), Universidad de Cantabria-CSIC, Santander.

²Departamento de Genética, Microbiología y Estadística, Facultad de Biología, Universitat de Barcelona, Barcelona.

E-mail de contacto: yelina.ortiz@unican.es

Los patógenos multirresistentes a antibióticos (MDR), tales como *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*, presentes en alimentos y carnes provenientes de la avicultura se están convirtiendo en un creciente problema de salud pública a nivel mundial. Con el fin de limitar el uso intensivo de antibióticos en la industria ganadera se están buscando terapias alternativas, tales como el uso de bacteriófagos líticos, que ayuden a controlar y reducir la incidencia de cepas MDR. A menudo los genes de resistencia a antibióticos se encuentran codificados en plásmidos conjugativos. En la naturaleza, existen bacteriófagos que usan como receptor específico el pilus de los plásmidos conjugativos. Estos bacteriófagos podrían utilizarse como armas específicas frente a cepas MDR.

En este trabajo se han identificado cuatro bacteriófagos de dsDNA pertenecientes al género *Alphatectivirus*, denominados: PR8, PR9, PR14 y PR20. Estos bacteriófagos muestran una fuerte capacidad lítica frente a bacterias que contienen plásmidos multirresistentes pertenecientes a la PTU-P1 y PTU-N1, tales como pRL443 y pKM101, respectivamente. Además, presentan una menor actividad lítica frente a plásmidos pertenecientes a la PTU-W, tales como R388, mientras que no afectan significativamente a cepas sin plásmidos. El uso de combinaciones de estos y otros bacteriófagos específicos de plásmidos puede ser una terapia adecuada para eliminar bacterias multirresistentes de la microbiota.

P5. Epidemiología de la enfermedad causada por *Cryptosporidium* en Gipuzkoa, 2018-2022.

Ane Sorarrain¹, Gustavo Cilla¹, Txema Marimon¹, Miriam Alkorta¹

¹Biodonostia, Área de Enfermedades Infecciosas; Osakidetza, OSI Donostialdea, Servicio de Microbiología.
20014 Donostia-San Sebastián.

E-mail de contacto: ane.sorarrain@biodonostia.org

Cryptosporidium es un protozoo causante de diarreas en humanos y otros animales vertebrados.

Objetivo: analizar la epidemiología de la enfermedad por *Cryptosporidium* y genotipar mediante secuenciación del gen *gp60* los casos detectados mediante PCR comercial entre 2018 y octubre de 2022 en el Hospital Universitario Donostia.

En total se diagnosticaron 779 episodios de diarrea por *Cryptosporidium* spp, disminuyendo de 375 en 2018 a 48 en 2020, ascendiendo de nuevo hasta los 158 en 2022.

Se identificó la especie causante de la enfermedad en 139 (18%) casos: 57 *Cryptosporidium hominis*, 80 *Cryptosporidium parvum*, 1 *Cryptosporidium ubiquitum* y 1 *Cryptosporidium cuniculus*. En 2018, *C. hominis* fue la más prevalente (26/30, 87%) mientras que en 2020 y 2021 *C. parvum* ocupó ese lugar: 13/14 (93%) y 21/24 (87.5%), respectivamente. En 2022 aumentó la proporción de *C. hominis* respecto a 2021 aunque *C. parvum* siguió siendo el más prevalente (26/40, 65%).

En 34/139 casos no se pudo establecer un genotipo. En *C. hominis* se detectaron 4 genotipos, siendo A10G2 (29/37, 78.4%) el más frecuente. En *C. parvum* se detectaron 16 genotipos, siendo A15G2R1 (31/68, 45.6%) el más prevalente.

Se observó un cambio en la criptosporidiosis humana en Gipuzkoa, pasando la especie dominante de *C. hominis* en 2018 a *C. parvum* en 2020-2022. Los años de mayor incidencia de criptosporidiosis coincidieron con un aumento de enfermedades por *C. hominis*. En ambas especies se observó la presencia de un genotipo dominante, aunque el número de genotipos causantes de enfermedad fue mayor en *C. parvum*.

P6. Caracterización de la actividad de las ATPasas conjugativas en sistemas de secreción de tipo IV.

Tamara Menguiano, Elena Cabezón, Ignacio Arechaga

Departamento de Biología Molecular, Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Universidad de Cantabria-CSIC.

E-mail de contacto: menguianot@unican.es

La conjugación bacteriana es el principal medio para la transferencia horizontal de genes. Desde un punto de vista sanitario constituye la vía principal para la diseminación de genes de resistencia a antibióticos. Por tanto, descifrar el mecanismo subyacente a este proceso es de gran interés. En la conjugación bacteriana la transferencia de ADN está mediada por el sistema de secreción de tipo IV (T4SS), un gran complejo macromolecular implicado en el transporte del sustrato y la biogénesis del pilus conjugativo. Ambos procesos requieren energía procedente de la hidrólisis de ATP catalizada por ATPasas específicas. En este trabajo, estudiamos la actividad de las ATPasas conjugativas del plásmido R388, en presencia de diferentes compuestos derivados del 8-aminoimidazol, que han sido seleccionados mediante cribado molecular en busca de posibles inhibidores con mayor efectividad que los ya conocidos, lo que permitiría su aplicación en la práctica clínica. Así mismo, analizamos la interacción de las diferentes ATPasas del sistema de secreción con la intención de describir los pasos que conducen al transporte del complejo nucleoproteico conjugativo. En este sentido, hemos observado que la actividad de TrwB, proteína de acoplamiento del plásmido R388, se ve inhibida en presencia de TrwC, lo que podría indicar una interacción funcional entre ambas ATPasas durante el proceso conjugativo.

P7. Análisis transcriptómico mediante RNA-Seq de microRNAs de sangre y válvula intestinal de vacas frisonas con distintos tipos de lesiones asociadas a la paratuberculosis.

Gerard Badia-Bringué¹, María Canive¹, Cristina Blanco-Vázquez², Rosana Torremocha³, Ricardo Ramos³, Rosa Casais², Marta Alonso-Hearn¹

¹*Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

²*SERIDA-Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario, Centro de Biotecnología Animal, Deva.*

³*Unidad de Genómica, Parque Científico de Madrid, Campus de Cantoblanco, Madrid.*

E-mail de contacto: gbadia@neiker.eus

Los microRNAs (miRNAs) son RNAs reguladores de la expresión post-transcripcional implicados en la regulación de varios procesos biológicos, entre ellos, la respuesta inmune frente a patógenos como *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, el agente causante de la paratuberculosis bovina (PTB). En este estudio se usó la tecnología de RNA-Seq para comparar los niveles de expresión de miRNAs en válvula ileocecal (VIC) y sangre periférica (SP) de vacas frisonas sin lesiones y con lesiones (focales y difusas) asociadas a la PTB (N=14). En VIC se identificaron 4, 5 y 18 miRNAs diferencialmente expresados en las comparaciones de animales con lesiones focales *versus* (vs) sin lesión, con lesiones difusas vs sin lesión, y con lesiones difusas vs focales, respectivamente. En SP se identificaron 8 miRNAs diferencialmente expresados en las comparaciones animales con lesiones focales vs sin lesión; 3 de los cuales aparecían también infraexpresados en la comparación lesiones difusas vs focales (miR-19a, miR-144, miR-32). En SP, únicamente dos miRNAs (miR-2425-3p y miR-139) estaban sobreexpresados en la comparación focal vs no lesión, lo cual los convertía en potenciales biomarcadores para el diagnóstico temprano de la PTB. Los cambios de expresión observados en cinco de los miRNAs identificados en SP (miR-19a, miR-144, miR-2425-3p, miR-139, miR-101) se validaron por RT-qPCR. A partir de la predicción de los mRNA diana de cada miRNA identificado se realizó un análisis de enriquecimiento funcional que permitió identificar dos rutas metabólicas, “RNA polimerasa” y “Señalización de MAPK”, significativamente enriquecidas en las comparaciones focal vs sin lesión y difusa vs focal, respectivamente.

P8. Diversidad plasmídica en *Salmonella enterica*.

Arancha Peñil-Celis¹, Santiago Redondo-Salvo¹, Kaitlin A Tagg², Hattie E Webb², Maria Pilar Garcillan-Barcia¹, Fernando de la Cruz¹

¹Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, CSIC-Universidad de Cantabria, Santander.

²Centro de control de enfermedades y prevención de enfermedades, Atlanta, USA.

E-mail de contacto: penila@unican.es

Salmonella enterica es una fuente importante de infecciones bacterianas a nivel global. Cada vez es más frecuente que estos microorganismos se vuelvan resistentes a los antibióticos y, por lo tanto, implican problemas importantes para la salud pública. Se sabe que *S. enterica* porta varios plásmidos implicados en virulencia y en la resistencia antimicrobiana. Por lo tanto, es relevante identificar las diferentes Unidades Taxonómicas de Plásmidos (PTU) de *S. enterica* y analizar sus propiedades idiosincrásicas. En este estudio se ha realizado una caracterización genómica de la diversidad de plásmidos presentes en 845 aislados de *S. enterica* pertenecientes a 114 serovares (agrupados en 15 clados filogenéticos). Para cada PTU, se ha inspeccionado su rango de hospedadores dentro de *S. enterica* y las PTU que cohabitan en la misma bacteria. La dinámica del flujo de genes entre las PTU, evaluada a través del análisis de redes, ha permitido ver que los genes de resistencia son compartidos entre varias PTU, mientras que los factores de virulencia parecen estar contenidos en PTU específicas. Todas estas investigaciones pueden contribuir al conocimiento básico para entender las estrategias de diseminación de *S. enterica*.

P9. Estudio fenotípico y genotípico de la formación de biopelículas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes con neumonía grave por SARS-CoV-2.

Ohiana Rodríguez-Medina¹, Marina Fernández Torres², Rodrigo Alonso Monsalve¹, Andrés Canut Blasco², Ilargi Martínez Ballesteros¹, Irati Martínez Malaxetxebarria¹

¹Grupo de investigación Mikrolker, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz.

²BioAraba, Microbiología Clínica, Vitoria-Gasteiz; Osakidetza, Servicio Vasco de Salud, Hospital Universitario de Álava, Servicio de microbiología, Vitoria-Gasteiz.

E-mail de contacto: oihanarodriguezmedina@hotmail.com

Pseudomonas aeruginosa provoca frecuentemente infección en pacientes hospitalizados. Su erradicación se ve obstaculizada por su alta resistencia antimicrobiana y por su capacidad de formar biopelículas; condiciones que le confieren una gran capacidad de colonización y persistencia a largo plazo. El objetivo del estudio fue caracterizar genotípica y fenotípicamente la capacidad de formación de biopelícula de aislamientos clínicos de *P. aeruginosa*.

Se estudiaron 22 aislamientos de *P. aeruginosa* procedentes de muestras de pacientes críticos ingresados en UCI del Hospital Universitario de Álava (HUA). El estudio de adherencia se realizó sobre placas de microtitulación de poliestireno, de fondo plano. La secuenciación del genoma completo se realizó mediante la plataforma NextSeq de Illumina y la búsqueda de genes asociados a la formación de biopelícula y de virulencia, mediante la base de datos vfdb.

Todas las cepas formaron biopelículas sobre plástico, presentando 20 de ellas adhesión fuerte, una adhesión media y otra adhesión débil. Las cepas presentaron genes implicados en la formación de biopelícula como genes relacionados con la producción de alginato, adherencia y la regulación del “*Quorum sensing*”. También se han detectado genes implicados en la adherencia a superficies, síntesis de toxinas, pigmentos y sistemas de secreción relacionados con la infección aguda (T3SS) y la infección crónica (T6SS).

P10. Estudio del efecto de los magnetosomas como agentes para hipertermia magnética en un modelo de tumor tridimensional.

Alicia Gascón Gubieda¹, Lucía Gandarias¹, Danny Villanueva Álvaro², M. Luisa Fernandez-Gubieda², Ana García-Prieto³, Ana Abad Díaz de Cerio¹

¹Depto. Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa.

²Depto. Electricidad y Electrónica, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa.

³Depto. Física Aplicada, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao.

E-mail de contacto: Alicia.gascon@ehu.eus

Las bacterias magnetotácticas son un grupo de bacterias capaces de alinearse con el campo magnético terrestre gracias a orgánulos llamados magnetosomas. Los magnetosomas son nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4), con una morfología muy uniforme y baja toxicidad; propiedades que los convierten en buenos candidatos para aplicaciones biomédicas. Una de las potenciales aplicaciones es su uso como generadores de calor para hipertermia magnética contra el cáncer.

En nuestro estudio hemos utilizado un modelo 3D (esferoides) de carcinoma pulmonar para: 1) Determinar cómo los magnetosomas se degradan en un tumor 3D; y 2) Determinar cómo de efectivos son los magnetosomas como generadores de calor en un sistema 3D. Para estudiar la degradación, generamos esferoides con células A549 marcadas con magnetosomas. Después analizamos su degradación por magnetometría y espectroscopia de absorción de rayos X en el borde cercano (XANES). Ambas técnicas revelaron que la magnetita de los magnetosomas se degrada muy lentamente a maghemita, y que hasta el 90% de la señal magnética sigue presente 36 días después de la internalización. Para estudiar su efectividad como agentes de hipertermia, incubamos esferoides con magnetosomas y los expusimos a un campo magnético alterno durante 45 minutos. El tratamiento resulta en un aumento significativo de la letalidad de hasta 40% en las 48 h siguientes a una única exposición.

P11. Plataforma de conjugómica. Desarrollo de un sistema de alto rendimiento para medir la frecuencia de la conjugación bacteriana.

Kepa Arbe Carton¹, Nagore Santos Fernández¹, Ohiane Altube Urquia¹, Carlos Garbisu Crespo², Lide Arana Urbieto³, Miren Itziar Alkorta Calvo¹

¹*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, UPV/EHU, Leioa.*

²*Departamento de Conservación de los Recursos Naturales, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

³*Departamento de Química Aplicada, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Donostia.*

E-mail de contacto: kepa.arbe@ehu.eus

El mal uso y abuso de los antibióticos está provocando la aparición y propagación de bacterias multirresistentes a los antibióticos. Para el año 2050 las bacterias multirresistentes podrían matar a más de 10 millones de personas, lo que las convertiría en la principal causa de muerte. Este preocupante escenario se ve agravado por el hecho de que las bacterias pueden propagar genes de resistencia a los antibióticos a otras bacterias mediante la transferencia horizontal de genes. Dado que la conjugación bacteriana es el principal mecanismo, es necesario cuantificar este proceso midiendo la frecuencia de conjugación. Los experimentos de conjugación bacteriana son muy tediosos porque la variabilidad del proceso hace necesario realizar muchas réplicas para tener resultados estadísticamente fiables. Por lo tanto, la cuantificación de la frecuencia de conjugación bacteriana necesita el desarrollo de un sistema rápido y de alto rendimiento que asegure un tiempo mínimo y bajos costes. En un intento de proporcionar una solución, nuestro objetivo es desarrollar un sistema de conjugación bacteriana de alto rendimiento para realizar ensayos de conjugación bacteriana de forma masiva que permita la rentabilidad en tiempo y costes, así como ensayos de conjugación bacteriana fiables. Proyectos con los que se ha financiado este trabajo: Proyecto del Ministerio de Ciencia e Investigación PID2020-116495RB-I00 y proyecto del Departamento de Educación, Universidades e Investigación (Gobierno Vasco) IT1578-22.

P12. Heterogeneidad alélica del gen *HYR1* de *Candida albicans*.

Marta Bregón Villahoz^{1,2}, Inés Arrieta Aguirre¹, Maria Dolores Moragues Tosantos¹

¹Departamento de Enfermería I, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco, Leioa.

²Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco, Leioa.

E-mail de contacto: marta.bregon@ehu.eus

La proteína Hyr1 se expresa en la pared de las hifas de *Candida albicans*, siendo un importante factor de virulencia ya que está implicada tanto en la resistencia a la fagocitosis como en la adhesión en biopelículas. El objetivo del estudio fue determinar la variabilidad genética de un fragmento del gen *HYR1* de *C. albicans*. Mediante PCR se amplificó la región de *HYR1* situada entre los nucleótidos 1594 y 2131, tomando como referencia la secuencia XM717090, de 110 aislamientos clínicos de *C. albicans*. Los amplicones se migraron a bajo voltaje en gel de agarosa 1,7%. Se han observado 8 bandas de diferente tamaño para el fragmento amplificado, que presentan 17 patrones de agrupación. 54 de los aislamientos son homocigotos (se detectó una única banda) y 53 heterocigotos (dos bandas). Por último, 3 de los aislamientos presentaron un patrón de tres bandas. Los resultados muestran que la región estudiada del gen *HYR1* de *C. albicans* presenta una gran variabilidad intraespecie e incluso entre los alelos de un mismo aislamiento. Se requiere profundizar en la caracterización de este gen ya que la expresión de un determinado alelo podría estar relacionada con características de los aislamientos clínicos de *C. albicans* tales como la capacidad de filamentar, el grado de virulencia o la sensibilidad a antifúngicos, con la consiguiente repercusión en el tratamiento y pronóstico de los pacientes con candidiasis invasora.

Financiación: Marta Bregón: beca predoctoral de la Universidad del País Vasco (PIF19/316).

Grupo GEIFI: Gobierno Vasco (IT913-16) y Universidad del País Vasco (GIU21/017).

P13. Nanopartículas lipídicas sólidas para mejorar la eficacia de los antibióticos.

Sara Arrieta¹, Nagore Santos¹, Mikel Roscales¹, Itziar Alkorta¹, **Lide Arana**²

¹*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao.*

²*Departamento de Química Aplicada, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Donostia.*

E-mail de contacto: lide.arana@ehu.eus

La resistencia a antibióticos se considera una de las mayores amenazas para la salud mundial y es muy necesario desarrollar nuevas herramientas y estrategias para minimizar este problema. Aunque la búsqueda de nuevos antibióticos es una de las estrategias más comunes, la salida al mercado de un nuevo antibiótico es cara y puede llevar muchos años. Por ello, la posibilidad de mejorar la eficacia de los antibióticos existentes se considera una posibilidad más realista a corto y medio plazo.

Se ha descrito que los sistemas de administración de fármacos pueden mejorar la eficacia del tratamiento. Entre otros sistemas, las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) representan una opción muy interesante, ya que ofrecen muchas ventajas para la administración selectiva de fármacos no tóxicos. Las SLN consisten en una matriz sólida lipídica de tamaño submicrónico rodeada por una monocapa de surfactante. En este sentido, la incorporación de antibióticos existentes en las SLN es una estrategia prometedora para tratar enfermedades infecciosas.

En este trabajo hemos incorporado diferentes cantidades de rifampicina (un antibiótico habitual para tratar infecciones bacterianas) en SLN y hemos caracterizado las suspensiones de nanopartículas obtenidas. Para ello, se analizó el tamaño medio, el índice de polidispersidad y el potencial zeta mediante dispersión dinámica de luz; la morfología de las partículas se observó mediante microscopía electrónica y la carga de fármaco y la eficiencia de atrapamiento se determinaron mediante espectroscopia UV-Vis. Por último, se determinó el efecto de las SLN cargadas de rifampicina en el crecimiento bacteriano, midiendo la densidad óptica de los cultivos bacterianos en presencia de diferentes suspensiones de SLN.

P14. Evaluación de la actividad *in vitro* de la combinación de anidulafungina y tacrolimus contra *Candida glabrata*.

Irene Rovira^{1,2}, Edurne Montemayor^{1,2}, Nerea Jauregizar², Katherine Miranda-Cadena¹, Elena Eraso¹, Sandra Gil-Alonso¹

¹Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología (GIC21/24 IT-990-16), Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa.

²Departamento de Farmacología (GIC21/24 IT-990-16), Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa.

E-mail de contacto: irenerovira99@gmail.com/sandra.gil@ehu.eus

Introducción: El aumento de las candidiasis invasoras producidas por la especie *Candida glabrata* supone un importante reto médico debido a las resistencias que presenta este patógeno a los tratamientos antifúngicos habituales, por eso, se requieren nuevas estrategias terapéuticas como el reposicionamiento de fármacos. El tacrolimus es un fármaco inmunosupresor, inhibidor de la calcineurina, cuyo efecto antifúngico se está investigando. Además, es posible que sea capaz de revertir la resistencia que *C. glabrata* desarrolla a las equinocandinas.

Objetivo: Estudiar la interacción *in vitro* de anidulafungina y tacrolimus contra *C. glabrata*.

Metodología: Se estudiaron las interacciones de anidulafungina y tacrolimus mediante ensayos de tablero de ajedrez, siguiendo las indicaciones del EUCAST, contra 13 aislamientos de *C. glabrata*. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para ambos fármacos en monoterapia y en combinación. Finalmente, se analizó la interacción de estos fármacos con los modelos de Índice de Concentración Inhibitoria Fraccional (FICI) y Bliss.

Resultados: La combinación de anidulafungina y tacrolimus resultó en una disminución en la media geométrica de la CMI de ambos fármacos. El modelo de FICI describió sinergia en 7 de los 13 aislamientos estudiados, mientras que el modelo Bliss, en 10. En conjunto, se observó una interacción sinérgica por un modelo o ambos en 11 de 13 aislamientos.

Conclusiones: La combinación de anidulafungina y tacrolimus resultó sinérgica contra el 84,6% de los aislamientos de *C. glabrata* evaluados. Los resultados obtenidos constituyen un punto de partida a considerar para futuros estudios de actividad antifúngica de tacrolimus.

P15. Fagocitosis y producción de especies reactivas de oxígeno en fagocitos de sangre entera mediante citometría de flujo.

Elena Molina, Maddi Oyanguren, Iker A Sevilla, Leire Fernández-Veiga, María V. Geijo, Joseba M. Garrido, Natalia Elguezabal

*Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.
E-mail de contacto: nelguezabal@neiker.eus*

Los análisis funcionales de células inmunitarias *in vitro* son útiles para el cribado de vacunas y compuestos farmacológicos. Muchas de estas técnicas son específicas de especie requiriendo el aislamiento previo de las células mediante diferentes protocolos y reactivos dependientes de la especie. Analizar sangre entera mediante citometría de flujo resulta ventajoso evitando el paso del aislamiento y ofreciendo la posibilidad de analizar más de un tipo celular a la vez.

Se ha desarrollado una técnica con el objetivo de combinar la evaluación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la fagocitosis de micobacterias fluorescentes por parte de neutrófilos y monocitos mediante citometría de flujo. Para ello, se ha combinado la tinción con dihidrorodamina 123 y el contacto con micobacterias fluorescentes que se han generado mediante electroporación con el plásmido de expresión pTEC27-apramycin-tomato. El *gating* de monocitos y neutrófilos se ha hecho basándose en FCS (forward scatter) y SSC (side scatter). La producción de ROS y la fagocitosis se han medido en los canales FITC y ECD, respectivamente. La puesta a punto se ha realizado con sangre de animales sanos de las especies ovina, caprina y bovina. Finalmente, se ha evaluado la sangre de cabras no vacunadas y vacunadas con una vacuna inactivada de *Mycobacterium bovis*, comprobando que tanto neutrófilos como monocitos de animales vacunados presentan una capacidad fagocítica aumentada.

Este método puede proporcionar resultados de producción de ROS y fagocitosis de neutrófilos y monocitos a partir de sangre entera que pueden complementar los experimentos de eficacia en la evaluación y cribado de vacunas.

P16. Nuevas alternativas terapéuticas frente a *Candida auris*: evaluación *in vitro* e *in vivo* de la actividad de citral en combinación con fármacos antifúngicos.

Iñigo de-la-Fuente, Andrea Guridi, Anna Batlle, Esther Tamayo, Elena Eraso, Guillermo Quindós, Elena Sevillano

Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología (GIC21/24 IT-990-16), Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa.
E-mail de contacto: elena.sevillano@ehu.eus

En los últimos años, la especie *Candida auris* ha cobrado especial relevancia por causar brotes hospitalarios de candidiasis invasiva asociados a altas tasas de mortalidad. Además, puede persistir en el entorno hospitalario durante períodos prolongados, siendo una fuente constante de infección. El tratamiento de estas infecciones es un reto clínico debido al patrón de multirresistencia que presenta por lo que se requiere investigar nuevas alternativas terapéuticas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de la interacción entre citral y anidulafungina, anfotericina B y fluconazol frente a aislamientos clínicos de *C. auris*, tanto *in vitro* como *in vivo*. Para ello se analizaron 19 aislamientos de *C. auris* obtenidos de diferentes muestras clínicas del Hospital La Fe, Valencia. Como controles se utilizaron *Candida parapsilosis* ATCC 22019 y *Candida krusei* ATCC 6258. La interacción *in vitro* entre el citral y el resto de fármacos antifúngicos se evaluó mediante un método de microdilución en tablero de ajedrez y como modelo *in vivo* se utilizó el invertebrado *Caenorhabditis elegans*. La combinación *in vitro* de citral con anfotericina B, anidulafungina y fluconazol redujo las CMI de los antifúngicos y del citral frente a *C. auris*. Las combinaciones de anfotericina B, anidulafungina y fluconazol con citral mostraron un 42,11 %, 36,84 % y un 10,53 % de sinergismo y un 47,37 %, 57,89 % y un 15,79 % de efecto aditivo respectivamente. Destacan las combinaciones de anidulafungina y fluconazol con citral, ya que aumentaron la supervivencia del nematodo *C. elegans* entre un 40% y un 50%.

P17. Prevalencia del virus del papiloma humano en varones: nuestra experiencia en la provincia de Bizkaia entre los años 2019 y 2022.

Iratxe Huerta^{1,2}, Javier Muga¹ y Maialen Larrea²

¹*Departamento de Genética, IMQ Analíticas, Erandio, Bizkaia.*

²*Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Deusto, Bilbao, Bizkaia.*

E-mail de contacto: iratxe.huerta@imqanalisis.es

El virus del papiloma humano (VPH) es un virus ADN bicatenario perteneciente a la familia *Papillomaviridae* y su infección es considerada la enfermedad de transmisión sexual (ETS) más frecuente del mundo. Hay identificados más de 200 genotipos y 40 de ellos pueden infectar la zona anogenital del varón y producir diferentes manifestaciones como verrugas o cáncer de pene y ano. Son los genotipos VPH 6, 11, 16 y 18 los más frecuentes hallados en hombres.

El objetivo de nuestro trabajo es estudiar la prevalencia de la infección por VPH y sus diferentes genotipos en varones sintomáticos residentes en la provincia de Bizkaia.

Se han analizado 410 muestras uretrales de hombres sintomáticos mediante amplificación por PCR y análisis y genotipado por tecnología CLART[®], obtenidas entre los años 2019 y 2022.

Según nuestros datos, la prevalencia de la infección por VPH a nivel genital se estima en el 29 % de los varones analizados. De ellos, son los genotipos 6 y 16 los más representados en nuestra población, presentes en el 18 % y el 10 %, respectivamente.

Nuestro estudio confirma la alta prevalencia de la infección por VPH en varones sintomáticos tanto de los genotipos oncogénicos como no oncogénicos y refuerza la importancia del estudio y diagnóstico del VPH.

P18. Factores ambientales de país asociados con la protección contra nuevas enfermedades infecciosas: el modelo de la COVID-19.

Ramón A. Juste

*Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.
E-mail de contacto: rjuste@neiker.eus*

Según la teoría de la inmunidad aprendida o entrenada (TRAIM), la infección con un patógeno puede generar una protección inespecífica contra posteriores infecciones por el mismo u otros. La aparición de la pandemia por COVID-19 proporciona un modelo adecuado para investigar si la memoria de infecciones endémicas protege contra nuevos patógenos. Para testar esta hipótesis, tres enfermedades (fiebre tifoidea, tuberculosis y difteria), la población per cápita de especies domésticas con datos en más de 150 territorios, así como diferentes variables socio-económicas (PIB, mortalidad infantil por debajo de 5, esperanza de vida, índice de desarrollo humano e índice de pobreza extrema) procedentes de tres bases de datos (IHME, OWID and FAO) se combinaron y se sometieron a un análisis de regresión múltiple. La asociación más fuerte, tanto de incidencia, como de mortalidad por COVID-19 fue la del índice de desarrollo humano, con un coeficiente de correlación r de Pearson de 0.7323 ($p < 0.0001$) y la mortalidad infantil por debajo de 5 con una r de -0.7763 ($p < 0.0001$). La incidencia de fiebre tifoidea y paratifoidea ($r = -0.6882$; $p < 0.0001$), la población de cerdos ($r = 0.3177$; $p < 0.0001$), de pollos ($r = 0.3352$; $p < 0.0001$) y de cabras ($r = -0.4462$; $p < 0.0001$) mostraron las correlaciones más fuertes de las variables infecciosas y ganaderas. En los modelos lineales combinados, las variables socio-económicas contribuían con un 66.5% a la variabilidad de la frecuencia de COVID-19, mientras que la fiebre tifoidea y paratifoidea, las poblaciones de cabras y monogástricos suponían un 9.7%. Respecto a las muertes por COVID-19, los resultados fueron 44.4% y 21.6%, respectivamente (razón TRAIM de daño a infección de 2.4). Estos resultados señalan a los factores socio-económicos como los más importantes conductores de la epidemiología de la COVID-19, pero también indican que los patrones moleculares microbianos ambientales jugarían un papel significativo en la protección contra nuevas enfermedades a través de mecanismos TRAIM.

P19. Identificación de marcadores genéticos del hospedador asociados a la resistencia a la infección por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.

Gerard Badia-Bringué, María Canive, Marta Alonso-Hearn

Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

E-mail de contacto: malonso@neiker.eus

El objetivo de este estudio fue el de identificar mecanismos y polimorfismos genéticos asociados a la resistencia a la infección por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Para ello, se evaluó la capacidad de monocitos-derivados de macrófagos (MDM) de sangre periférica de 75 vacas de la raza Holstein e infectadas *ex vivo* con MAP para controlar la carga bacteriana intracelular. La carga bacteriana en los MDM infectados se cuantificó a las 2 horas y 7 días post-infección (p. i.) empleando el sistema Bactec MGIT 960. Por otro lado, se extrajo DNA de muestras de sangre periférica de los animales incluidos en el estudio que se genotiparon con el chip EuroG MD de Illumina. Tras realizar el estudio de asociación genética, las heredabilidades (h^2) estimadas para la carga bacteriana intracelular a las 2 horas y 7 días p. i. fueron altas ($h^2 = 0.8$). Se identificaron 6 polimorfismos, 5 genes candidatos y un micro-RNA en los cromosomas BTA2, BTA17, BTA18, y BTA21 del genoma de *Bos taurus* asociados con baja carga bacteriana intracelular a las 2 h y 7 d. p. i. Los genes candidatos identificados (*OSBPL6*, *CSRNP3*, *CCDC92*) están implicados en la regulación del tráfico de colesterol, apoptosis, y producción de interferón, respectivamente. Los SNPs identificados se utilizaron para realizar predicciones genéticas que se validaron experimentalmente en MDM de animales con alta y baja carga intracelular estimada. En conjunto, nuestros resultados definen un perfil inmunogénico diseñado para controlar el crecimiento intracelular de MAP que permitiría identificar y seleccionar animales resistentes a la infección.

P20. Desarrollo de un modelo *in vitro* para evaluar la actividad antimicrobiana y antibiofilm de galotaninos de origen vegetal frente a patobiontes intestinales.

Ibai Nafarrate², Héctor Rodríguez¹, Naiara Gutiez¹, Janire Castelo¹, Juan Anguita¹, Felipe Goñi-de-Cerio², Ainhoa Bilbao²

¹*Inflammation and Macrophage Plasticity lab, CIC bioGUNE-BRTA (Basque Research and Technology Alliance), Derio.*

²*Biotechnology Department, GAIKER Technology Centre, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Zamudio.*

E-mail de contacto: bilbaaa@gaiker.es

La cavidad oral y el tracto gastrointestinal son ecosistemas que proporcionan condiciones ideales para el crecimiento de bacterias patógenas como *Fusobacterium nucleatum*, microorganismo que se ha demostrado que está asociado al desarrollo de enfermedades como el cáncer colorrectal. Los microorganismos, en la gran mayoría de los medios naturales crecen y viven asociados a superficies (bióticas o abióticas) como una comunidad multicelular en forma de biofilm, que les confiere mayor resistencia a los diferentes tratamientos con compuestos antimicrobianos.

Con el fin de poder evaluar nuevos compuestos con actividad antimicrobiana y antibiofilm, se ha desarrollado un modelo *in vitro* de generación de biofilm con el patógeno *F. nucleatum* y su homólogo probiótico *Lactobacillus plantarum*, sobre discos recubiertos con intestino natural de cerdo, tratando de mimetizar el epitelio intestinal.

Así se ha evaluado el efecto de compuestos polifenólicos naturales derivados de plantas (galotaninos) en el desarrollo de biofilm con las concentraciones que han mostrado tener un efecto antimicrobiano (1 mg/ml, 62,5 µg /ml y 0,5 mg/ml) por el método CMI (concentración mínima inhibitoria) frente a *F. nucleatum*, sin afectar al crecimiento de *L. plantarum*.

P21. Secreción de factores de virulencia por *Candida albicans* y estudio de factores que influyen en su producción.

Asier Ramos-Pardo, Rocío Castro-Álvarez, Mireya Flores, Carla Goicoechea, Guillermo Quindós, Elena Eraso, Elena Sevillano, Vladimir R. Kaberdin

Departamento de Inmunología, Microbiología and Parasitología, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Leioa.
E-mail de contacto: elena.sevillano@ehu.eus.

Candida albicans es un patógeno oportunista capaz de prosperar en condiciones adversas como puede ser un pH subóptimo. Su patogenicidad está asociada a la producción de factores de virulencia, entre los que destacan las enzimas hidrolíticas extracelulares. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del pH externo sobre la eficacia de producción de proteasas, lipasas y hemolisinas. Para ello se analizaron 20 aislamientos clínicos de *C. albicans* procedentes de diferentes zonas anatómicas: cavidad oral, sangre, piel, orina y vagina. Para detectar la producción de enzimas se realizaron ensayos en placa a pH 5,0, 6,5 y 7,5 utilizando sustratos adecuados a cada familia de enzimas. Tras la incubación se midieron las zonas hidrolíticas formadas alrededor de las colonias para calcular los índices enzimáticos Ez (Enzymatic zone). El pH influía en la producción de proteasas ya que se observó actividad a pH 5,0 (80%) y pH 6,5 (75%), mientras que no fue detectable a pH 7,0. Del mismo modo, el porcentaje de aislamientos que presentaron actividad lipolítica fue mayor a pH 5,0 (90%) que a pH 6,5 (70%) y pH 7,5 (35%). En cambio, la actividad hemolítica se detectó en todos los aislamientos a pH 6,5 y 7,5. Al analizar la relación entre la producción enzimática y el origen de la muestra, se observó que las diferencias en las actividades detectadas podrían atribuirse más a las variaciones del pH de las zonas de infección que al origen anatómico de estas cepas.

Pósteres Microbiología

Básica

P22. Secreción Funciones de los dos dominios líticos presentes en la viroporina 2B de FMDV.

Eneko Largo^{1,2}, José Luis Nieva^{2,3} y Lidia Gómez^{2,3}

¹*Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco, Bilbao.*

²*Instituto Biofisika (CSIC-UPV/EHU).*

³*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco, Bilbao.*

E-mail de contacto: lidia.gomez@ehu.eus

El virus de la fiebre aftosa (FMDV), es un virus de ARN de cadena positiva de la familia *Picornaviridae* que afecta al ganado provocando grandes pérdidas económicas anualmente. Su genoma codifica proteínas estructurales y no estructurales. Entre estas últimas se encuentra la proteína 2B, una viroporina de clase IIB. Ensayos de espectroscopia de infrarrojo usando péptidos que se solapan parcialmente, han demostrado la presencia de α -hélices transmembrana (hélices 1 y 3), separadas dentro de la secuencia de 2B, capaces de formar poros iónicos. Se ha propuesto que 2B se localiza en el retículo endoplásmico (RE) y permeabiliza su membrana al calcio, evitando así el correcto funcionamiento de las señales pro-apoptóticas de las células infectadas. Aun así, el mecanismo y funciones de estos dos dominios líticos son todavía desconocidos. En este estudio, hemos investigado si los dominios mencionados tienen la capacidad de interactuar y permeabilizar membranas modelo de mitocondria, promoviendo así la apoptosis. Para ello, primero realizamos ensayos de co-localización con la proteína de fusión GFP-2B y un marcador fluorescente de mitocondrias; y posteriormente ensayos de inserción en monocapas, permeabilización de vesículas y de citometría. Nuestros resultados apoyarían que 2B no solo se localizaría en el RE y lo permeabilizaría a través de la formación de poros, sino que también podría permeabilizar la membrana mitocondrial externa (MME), pudiendo promover la apoptosis. Además, describimos mutaciones en ambos dominios líticos que no interfieren en la co-localización con el marcador mitocondrial, pero que bloquean su actividad permeabilizadora y con ello su función biológica.

P23. Diferencias entre las reacciones observadas en cobayas expuestas a bacterias tuberculosas y no tuberculosas al aplicar antígenos oficiales y alternativos en la prueba intradérmica de diagnóstico de la tuberculosis bovina.

Leire Fernández-Veiga¹, Miguel Fuertes¹, María V. Geijo¹, Bernat Pérez de Val², Lorraine Michelet³, Laura Boschiroli³, Alberto Gómez-Buendía⁴, Javier Bezos^{4,5}, Gareth Jones⁶, Martin Vordermeier⁶, Ramón A. Juste¹, Joseba M. Garrido¹, **Iker A. Sevilla**¹

¹Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

²IRTA-Programa de Sanitat Animal, Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), Bellaterra.

³Unité Zoonoses Bactériennes, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), Maisons-Alfort. Francia.

⁴Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Madrid.

⁵Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

⁶Department of Bacteriology, Animal and Plant Health Agency (APHA), Surrey. Reino Unido.

E-mail de contacto: isevilla@neiker.eus

Las pruebas de piel llamadas intradermotuberculinización simple y comparada (IDTB-S/C) usando la PPD bovina y la aviar (PPD-B/A) son las oficiales para el diagnóstico *in vivo* de la tuberculosis (TB) bovina, pero la sensibilización con bacterias no tuberculosas puede provocar reacciones inespecíficas. Este estudio evalúa el desempeño de los antígenos oficiales (PPDs) y otros “definidos” (P22 y cóctel de péptidos (PCL) y proteína de fusión (FP) ESAT6-CFP10-Rv3615c) en cobayas inoculadas con *Rhodococcus equi*, *Nocardia* sp, *M. nonchromogenicum*, *M. monacense*, *M. intracellulare*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, subsp. *avium* y subsp. *hominissuis*, *M. scrofulaceum*, *M. kansasii*, *M. microti*, *M. caprae* y *M. bovis*. La inoculación con dosis estándar (SD) de *R. equi*, *Nocardia* sp., *M. nonchromogenicum*, *M. monacense*, *M. intracellulare* y *M. avium* subsp. *paratuberculosis* no causó reacciones PPD-B o P22, pero la dosis alta (HD) de las 4 últimas y la SD de *M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. scrofulaceum* y *M. kansasii*, sí. Aplicando una interpretación IDTB-C los grupos del complejo *M. avium* y *M. scrofulaceum* serían considerados negativos, pero no los grupos *M. nonchromogenicum* HD, *M. monacense* HD y *M. kansasii* SD, lo que apunta a posibles interferencias también en IDTB-C. PCL y FP sólo reaccionaron en los grupos tuberculosos (100% especificidad) y las reacciones de FP fueron comparables a las de PPD-B (alta sensibilidad). Estos resultados apoyan la utilización complementaria o sustitutiva de los antígenos definidos para aumentar la especificidad sin perder sensibilidad.

P24. Estudio de expresión génica e inmunoproteómico del hongo *Candida auris* en presencia de estrés oxidativo.

Maialen Areitio, Leire Martin-Souto, Leire Aparicio-Fernandez, Aitor Rementeria, Idoia Buldain, Aitziber Antoran, Andoni Ramirez-Garcia

Fungal and Bacterial Biomics Research Group, Dept. Inmunología, Microbiología y Parasitología, Fac. Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU) Leioa, España.

E-mail de contacto: maialen.areitio@ehu.eus

Desde su identificación en 2009, *Candida auris* ha generado una alerta sanitaria debido a la capacidad de generar brotes hospitalarios y su difícil erradicación, causados por su resistencia a diferentes estreses y tratamientos. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar los genes y proteínas involucradas en la resistencia de *C. auris* frente al estrés oxidativo. Para ello, se analizó la respuesta de *C. auris* frente al estrés generado por 8 mM de H₂O₂ mediante estudios de expresión génica, y análisis del proteoma e inmunoma. Mediante RT-qPCR se detectó la sobreexpresión de los genes *CAT1*, *TSA1B*, *CCP1*, *SOD1* y *SOD6*. El análisis proteómico realizado por 2-DE mostró 4 puntos proteicos específicamente expresados y 11 sobreexpresados con respecto al control. Por último, mediante WB se analizó el inmunoma obtenido con sueros de ratones infectados por *C. auris*, en el cual se detectó un antígeno coincidente con una proteína sobreexpresada más de 10 veces en el estudio proteómico. Finalmente, dicho punto se identificó como *5-methyltetrahydropteroyltriglutamate—homocysteine S-methyltransferase* (Met6), proteína esencial y parte de la ruta de biosíntesis de la metionina. En conclusión, el estudio de qPCR realizado detectó varios genes implicados en la respuesta frente al estrés oxidativo, y el análisis inmunoproteómico permitió identificar un antígeno que se encontraba sobreexpresado a nivel proteómico.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado por una ayuda a la investigación de Gobierno Vasco (IT1362-19). MA y LAF son receptoras de becas Predoctorales del Gobierno Vasco y de la Universidad del País Vasco (UPV/EHU), respectivamente.

P25. Potencial de los plásmidos en Biología Sintética: Puertas lógicas NOT y YES basadas en la movilidad de plásmidos.

Daniel García-López, Arancha Peñil-Celis, Fernando de la Cruz, M. Pilar Garcillán-Barcia

Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (CSIC-Universidad de Cantabria), Santander.

E-mail de contacto: daniel.garcialopez@unican.es, maria.garcillan@unican.es

Uno de los principales objetivos de la Biología Sintética es la obtención de organismos con comportamientos altamente programables, racionales y robustos. Con este fin, se han desarrollado circuitos genéticos sintéticos que “reprograman” los sistemas naturales. Estos suelen estar constituidos por puertas lógicas que computan concentraciones de diferentes moléculas. Sin embargo, no están exentos de inconvenientes, tales como inespecificidad, retroactividad, escasa ortogonalidad o carga metabólica excesiva. Como alternativa a los circuitos convencionales y con el objetivo de evitar estos problemas, nosotros proponemos el uso de plásmidos para la construcción de puertas lógicas útiles en biocomputación distribuida. En este trabajo, hemos diseñado puertas lógicas YES y NOT, basándonos en replicación condicional y en la estrategia plasmídica “inhibición de la fertilidad”, respectivamente. Hemos evaluado diferentes promotores inducibles, replicones y genes de inhibición de la fertilidad. La posibilidad de emplear los plásmidos resultantes en puertas lógicas se ha estudiado mediante ensayos de conjugación. Asimismo, las condiciones se han optimizado para conseguir salidas “0” y “1” del circuito claramente diferenciadas. Los resultados indican la viabilidad y el potencial de estas puertas lógicas basadas en plásmidos que podrían formar parte de circuitos más complejos con aplicaciones en biodetección, ingeniería metabólica o control poblacional, entre otros.

P26. Un análisis sistemático del plasmidoma de cianobacterias.

Antonio Mesa Galán, Fernando de la Cruz, M. Pilar Garcillán Barcia

IBBTEC, Universidad de Cantabria – CSIC, Santander, Cantabria.

E-mail de contacto: antonio.mesa@unican.es

Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos capaces de fijar nitrógeno y CO₂ atmosféricos. Estas características confieren a este phylum un amplio potencial, no solo a nivel industrial en la producción de numerosos compuestos de interés, sino también en la lucha contra el cambio climático. No obstante, aún se requiere del perfeccionamiento de técnicas biotecnológicas para explotar todo el potencial de estos organismos. Los plásmidos suponen uno de los pilares fundamentales de la biotecnología y la delimitación de sus elementos esenciales es primordial para un uso y desarrollo más eficientes de herramientas basadas en ellos. Este trabajo explora el plasmidoma del phylum *Cyanobacteria*, evaluando las relaciones entre estos genomas, caracterizando su pangenoma y los elementos distintivos entre éstos y los cromosomas. Utilizando herramientas bioinformáticas identificamos funcionalidades compartidas entre grupos de plásmidos, prestando especial importancia a los elementos involucrados en la replicación y la transferencia. Estos elementos pueden pavimentar el camino para el desarrollo de vectores que faciliten la modificación genética de estos organismos.

P27. Distribución de Sistemas de Secreción Tipo VI en plásmidos.

María del Mar Quiñonero-Coronel, Sheila González-Gutiérrez, Fernando de la Cruz, M. Pilar Garcillán-Barcia

*Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Universidad de Cantabria-CSIC, Santander.
E-mail de contacto: quinoneromm@unican.es*

El Sistema de Secreción Tipo VI (T6SS) es un complejo multiproteico presente en bacterias Gram-negativas que permite inyectar efectores de una manera dependiente de contacto a otras células, tanto procariontas como eucariotas. Hemos analizado la base de datos NCBI RefSeq para detectar componentes del T6SS tanto en cromosomas bacterianos como plásmidos, evaluando su abundancia y diversidad en estos últimos. La diversidad de los T6SSs se estudió mediante la reconstrucción filogenética de uno de los componentes identificados, TssC, siendo el subtipo i el más abundante. Los plásmidos con T6SS fueron asignados a su correspondiente Unidad Taxonómica Plasmídica (PTU), estudiando su potencial de movilización y posibles rutas de diseminación a través de los diferentes grupos bacterianos. De este modo, este análisis genómico de los T6SSs codificados en plásmidos permite generar un catálogo de T6SSs móviles, proporcionando información sobre la diversidad y abundancia de los diferentes grupos filogenéticos de T6SS en plásmidos, su ecología en plásmidos y especies bacterianas, así como los mecanismos implicados en la incorporación de estos sistemas en plásmidos.

P28. Implicación del proteoma de la pared celular de *Candida auris* en su virulencia.

Katherine Miranda-Cadena¹, Ana Sáez¹, Iker Dominguez¹, Cristina Marcos-Arias¹, Estibaliz Mateo¹, Elena Sevillano¹, Guillermo Quindós¹, Piet de Groot², Elena Eraso¹

¹Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología (GIC21/24 IT-990-16), Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Bilbao.

²Centro Regional de Investigación Biomédica, Parque Científico y Tecnológico de Castilla-La Mancha, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete.

E-mail de contacto: elena.eraso@ehu.es

Candida auris es una levadura patógena multirresistente que constituye una alerta sanitaria mundial por la elevada tasa de mortalidad de las infecciones que provoca y por su gran persistencia en ambientes hospitalarios. Con este trabajo se busca evaluar la implicación de las adhesinas de pared codificadas por los genes *IFF1*, *4*, *4.6* y *6*, *RBR3* y *HYR3* en la virulencia de *C. auris*. Con este fin, se analizaron la cepa parental de *C. auris* y 14 mutantes con deleciones simples y múltiples de hasta seis genes (*iff4Δ/iff1Δ/iff6Δ/rbr3Δ/hyr3Δ/iff6.4Δ*) obtenidos mediante la técnica de edición genética CRISPR-CAS9. Se determinó la producción de biopelículas en el medio RPMI y se midió la actividad metabólica y la biomasa tras 24 y 48 h a 37 °C mediante la reducción de sales de tetrazolium y la tinción de cristal violeta, respectivamente. La virulencia in vivo se evaluó en el modelo *Galleria mellonella*, inoculando 10⁶ células de *Candida*/larva y estudiando la supervivencia de *G. mellonella* cada 24 h durante 120 h. Los mutantes, *iff1Δ*, *iff4Δ* e *iff4Δ/iff1Δ/iff6Δ/rbr3Δ/hyr3Δ/iff6.4Δ* produjeron biopelículas con una reducción significativa de la biomasa con respecto a la cepa parental. Los mutantes *iff6Δ*, *rbr3Δ*, *hyr3Δ*, *iff4Δ/iff1Δ/iff6Δ* e *iff4Δ/iff1Δ/iff6Δ/rbr3Δ/hyr3Δ/iff6.4Δ* mostraron menor virulencia en *G. mellonella* en contraste con la cepa parental. En conclusión, las deleciones *iff1* e *iff4* y las deleciones acumuladas *iff1*, *iff4*, *iff6*, *iff6.4*, *rbr3* y *hyr3* están involucradas en la formación de biopelículas. Además, las deleciones en *iff6*, *rbr3*, *hyr3*, y deleciones acumulativas *iff1*, *iff4* e *iff6* y también *iff1*, *iff4*, *iff6*, *iff6.4*, *rbr3* y *hyr3* están implicadas en la virulencia de *C. auris* en *G. mellonella*.

P29. Estudio del gen Afu4g10610 sobreexpresado durante infecciones *in vivo* e *in vitro* de *Aspergillus fumigatus* mediante la obtención de un mutante de delección.

Eduardo Pelegri-Martinez¹, Uxue Perez-Cuesta¹, Saioa Cendon-Sanchez¹, Andoni Ramirez-Garcia¹, Xabier Guruceaga², Aitor Rementeria¹

¹Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, UPV/EHU, Leioa.

²Department of Clinical Pharmacy and Translational Science, Pharmacy College, UTHSC, Memphis, TN, EEUU.

E-mail de contacto: eduardo.pelegri@ehu.eus

Aspergillus fumigatus tiene una gran incidencia y mortalidad en pacientes inmunocomprometidos, por ello estudiar la virulencia del hongo y definir nuevas dianas diagnósticas y terapéuticas se convierte en una necesidad. El estudio del transcriptoma completo del hongo durante la infección *in vitro* de cultivos celulares (macrófagos murinos RAW 264.7 y células epiteliales pulmonares humanas A549) e *in vivo* durante la infección de ratones BALB/c, con el uso de un *microarray* de expresión AWAFLUGE (Agilent Whole *A. fumigatus* Genome Expression 44K v.1), detectó la sobreexpresión del gen Afu4g10610 en todas las condiciones. Este gen codifica una proteína hipotética. El análisis bioinformático de la secuencia génica reveló un dominio homólogo de *A/B Barrel* dimérico, indicando su localización en la membrana plasmática y una posible relación con respuestas a estrés. Mediante CRISPR-Cas9 se delecionó este gen en la cepa Af293 de *A. fumigatus* (WT) obteniéndose el mutante $\Delta 10610$. Su análisis fenotípico detectó mayor sensibilidad al estrés de pared celular por Rojo Congo y mayor resistencia a estrés osmótico por NaCl/KCl, respecto a la cepa WT. Por otro lado, los resultados con cafeína muestran que no está relacionado con la vía de señalización TOR y sugieren una posible vinculación con la vía de integridad de la pared celular. Aunque se debe seguir estudiando en profundidad, esta proteína podría ser un nuevo y prometedor sensor de *A. fumigatus* implicado en la homeostasis de la pared celular.

Financiación: Proyecto IT1657-22 (Gobierno Vasco). EPM, UPC y SCS

P30. El efector Tse5 del sistema de secreción tipo VI de *P. aeruginosa* forma poros iónicos selectivos en membrana, interrumpiendo así el potencial de membrana de las células intoxicadas.

Amaia González-Magaña^{1,#}, Jon Altuna-Alvarez^{1,#}, Maria Queralt-Martin², Eneko Largo^{1,3}, Carmen Velázquez¹, **Itxaso Montánchez**³, Patricia Bernal⁴, Antonio Alcaraz², David Albesa-Jové^{1,5}

¹Intituto Biofisika (CSIC, UPV/EHU), Fundación Biofisika Bizkaia (FBB) y Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, UPV/EHU, Leioa.

²Departamento de Física, Universitat Jaume I, Castellón de la Plana.

³Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, UPV/EHU, Leioa.

⁴Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla, Sevilla.

⁵Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbo.

Estos autores han contribuido a partes iguales en el trabajo. E-mail de contacto: itxaso.montanchez@ehu.eus

El sistema de secreción tipo VI (SST6) de *Pseudomonas aeruginosa* inyecta proteínas efectoras tanto en los competidores vecinos como en las células del huésped, lo que proporciona a este patógeno nosocomial oportunista una ventaja adaptativa que le permite persistir y prevalecer durante el inicio de la infección. Sin embargo, a pesar de la gran relevancia clínica de este patógeno, no se han identificado la mayoría de los efectores del SST6 de *P. aeruginosa*, y su mecanismo de acción sigue siendo desconocido. Este trabajo dilucida el mecanismo molecular de Tse5-CT, el producto tóxico autoproteolítico del efector Tse5 exportado por el SST6 de *P. aeruginosa*. En particular, nuestro trabajo más reciente muestra que Tse5 mata a las células bacterianas intoxicadas mediante la formación de poros iónicos selectivos, lo que puede explicar la despolarización de membrana observada en las células de *Pseudomonas putida* que expresan la toxina. El potencial de membrana regula una amplia gama de funciones celulares esenciales y, por tanto, la despolarización de la membrana es una estrategia eficaz para competir con otros microorganismos en entornos polimicrobianos.

P31. Nuevos microorganismos marinos potencialmente productores de ácidos grasos poliinsaturados en genomas del océano global.

Raquel Liébana¹, Anders Lanzén¹, Francisco M. Cornejo-Castillo², Pablo Sánchez², Josep M. Gasol², Silvia G. Acinas², Laura Alonso-Sáez¹

¹AZTI, Investigación Marina, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Sukarrieta.

²Institut de Ciències del Mar (ICM)-CSIC, Barcelona.

E-mail de contacto: rliebana@azti.es

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFAs), entre los que se incluyen los Omega 3 como el eicosapentaenoico (EPA) y el docosahexaenoico (DHA), tienen una gran relevancia para la salud humana. En el océano, estos ácidos grasos son producidos principalmente por fitoplancton, y se acumulan a lo largo de la cadena trófica. Recientemente se ha descrito una vía de síntesis de PUFAs mediante policétido sintasas en algunos eucariotas unicelulares (Thraustochytridos) y aislados bacterianos afiliados a Gammaproteobacteria (p. ej., *Shewanella*, *Colwellia* y *Vibrio*) y Flavobacteria (*Psychroflexus*). Sin embargo, se desconoce si estos taxones dominan la producción de PUFA en el océano. Con el objetivo de determinar la abundancia y diversidad de microorganismos marinos productores de PUFAs, hemos examinado un total de 34.799 MAGs (metagenome assembled genomes), SAGs (single amplified genomes) y genomas de referencia provenientes de las bases de datos *Ocean Microbiomics* y 713 MAGs y SAGs ensamblados a partir de la fracción eucariota de *Tara Oceans*. Detectamos un total de 237 genomas procariotas y 3 eucariotas potencialmente productores de PUFAs, que están afiliadas a taxones ya descritos como potenciales productores de PUFAs, pero también nuevos productores potenciales, como organismos del orden SAR324, que destaca por su abundancia y amplia distribución en el océano. En este trabajo identificamos nuevos candidatos productores de PUFAs en el océano que suministrarían estos lípidos esenciales al resto de la cadena trófica y podrían constituir nuevas fuentes para su producción a nivel biotecnológico.

P32. Pipeline bioinformático práctico para el análisis rutinario de datos WGS bacterianos.

Aitor Atxaerandio-Landa^{1,2}, **Ainhoa Arrieta-Gisasola**^{1,2}, Lorena Laorden^{1,2}, Joseba Bikandi^{1,2}, Javier Garaizar^{1,2}, Ilargi Martinez-Ballesteros^{1,2}

¹Grupo de investigación Mikrolker, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), 01006 Vitoria-Gasteiz.

²Bioaraba, Grupo de Microbiología, Enfermedades Infecciosas, Antimicrobianos y Terapia Génica, 01009 Vitoria-Gasteiz.

E-mail de contacto: aitor.achaerandio@ehu.eus

El uso de la secuenciación del genoma completo (WGS) para la caracterización bacteriana se ha incrementado sustancialmente en la última década. El alto rendimiento y el decreciente costo de WGS ha llevado a un cambio significativo en las investigaciones de brotes y la vigilancia de una amplia variedad de patógenos microbianos. A pesar de las muchas ventajas de WGS, varios inconvenientes relacionados con el análisis y la gestión de datos, así como la falta general de estandarización, dificultan su integración en el uso rutinario. En este trabajo, se presenta un *pipeline* bioinformático para datos de WGS (Illumina) para la caracterización bacteriana que incluye: anotación del genoma, identificación de especies, predicción de serotipos, predicción de resistencia a antimicrobianos, detección de genes relacionados con la virulencia, detección de replicones plasmídicos y agrupación filogenética en base a su core-genoma o a los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). El *pipeline* se ha validado utilizando 22 genomas de *Salmonella enterica* procedentes a un brote local del País Vasco, junto con una colección de 182 genomas de *Salmonella* disponibles en bases de datos públicas. No se detectaron errores de procesamiento durante el período de ejecución del *pipeline* y todos los genomas pudieron ser analizados mediante esta herramienta. El *pipeline* se puede adaptar a otros patógenos de interés y está disponible gratuitamente para su uso como un archivo cargable en la plataforma Galaxy.

P33. Caracterización del aislamiento ASV31, una bacteria alcalófila facultativa y extremadamente halotolerante aislada de la salmuera de una salina continental.

Maia Azpiazu-Muniozguren¹, Minerva García Martínez¹, Lorena Laorden^{1,2}, Irati Martínez-Malaxetxebarria^{1,2}, Joseba Bikandi¹, Javier Garaizar Candina^{1,2}, Ilargi Martínez-Ballesteros^{1,2}

¹Grupo de Investigación Mikrolker, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Paseo de la Universidad 7, 01006, Vitoria-Gasteiz, Álava, España.

²Bioaraba, Microbiología, Enfermedades Infecciosas, Agentes Antimicrobianos y Terapia Génica, 01006, Vitoria-Gasteiz, Álava, España.

E-mail de contacto: maiaazpiazu29@gmail.com

Durante un estudio sobre diversidad procariota realizado en el Valle Salado de Añana (Álava), se obtuvo un aislamiento (ASV31) procedente del agua hipersalina de uno de los manantiales. El análisis filogenético en base al gen 16S rRNA mostró que el aislamiento ASV31 formaba una rama distinta dentro de la familia *Rhodobacteraceae*, entre el grupo *Rhodovulum* y *Rhodobacter*, siendo *Thioclava pacifica* DSM 10166^T la cepa tipo más cercana (95,1% de similitud entre secuencias). Se realizó un estudio polifásico para caracterizar el aislamiento y se comprobó que se trataba de un bacilo Gram negativo aerobio inmóvil, que forma colonias beige-rosa en agar marino, halotolerante (tolerando hasta un 23% de NaCl) y alcalófilo facultativo, creciendo a pH entre 6,5 y 9,5. Se observó la producción de polihidroxicanoatos (PHAs) y exopolisacáridos mediante microscopía. El análisis de los índices ANI (73,9%), dDDH (19,3%), AAI (63,5%) y POCP (56,0%) con la cepa taxonómicamente más cercana, mostraron que los valores obtenidos estaban por debajo de los límites establecidos para clasificar dos cepas en diferentes géneros. El análisis genómico sugiere la capacidad de degradar compuestos aromáticos y sintetizar metabolitos secundarios como ectoína o terpenos. Asimismo, se observaron perfiles distintivos de ácidos grasos y contenido de lípidos polares. El tamaño de su genoma es de 3,6 Mbp con un contenido de G+C del ADN del 65,7%. En base a los resultados obtenidos, se ha propuesto el aislamiento ASV31 como una nueva especie de un nuevo género dentro de la familia *Rhodobacteraceae*.

P34. Un mar de soluciones para el planeta.

Zuriñe Baña^{1,2}, Marian Unanue¹, Itxaso Artolozaga¹, Celia Calcedo¹, Iker Fernández¹, Olatz Sainz¹, Nerea Gómez¹, Miriam Herrán¹, Iñigo Azua^{1,2}

¹*Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología; Facultad de Ciencia y Tecnología. Leioa.*

²*Centro de Investigación en Biología y Biotecnología Marinas Experimentales PIE-UPV/EHU. Plentzia.*

E-mail de contacto: zurine.bana@ehu.eus

El mar es una reserva inagotable de diversidad genética y funcional microbiana en gran medida desconocida e infrautilizada. El medio marino es muy diverso, y dadas sus especiales características (salinidad media, bajas temperaturas y concentración de nutrientes), en él se desarrollan comunidades bacterianas con potencialidades metabólicas y fisiológicas únicas, que pueden ser utilizadas en el contexto de la biotecnología azul. El grupo de investigación Microbios Marinos (UPV/EHU) ha desarrollado procedimientos para el cultivo, aislamiento e identificación de bacterias marinas con capacidades potenciales para la producción de enzimas y otros metabolitos de interés con gran variedad de aplicaciones a nivel industrial, medioambiental y sanitario. Actualmente el grupo de investigación cuenta con una amplia colección de bacterias marinas (más de 700), procedentes de las aguas superficiales de la zona costera del Mar Cantábrico oriental y aisladas durante diferentes épocas del año y bajo diferentes condiciones de crecimiento. En resultados preliminares, varias especies de los géneros *Pseudoalteromonas* o *Kocuria* han demostrado ser capaces de producir enzimas de interés industrial como celulasas, amilasas, caseinasas, fosfatasas, DNAsas o lacasas, producir compuestos antimicrobianos, o incluso podrían tener potencial para la degradación de contaminantes ambientales recalcitrantes.

P35. Relaxasa-Cas: un nuevo método de envío *in vivo* de editores CRISPR de bases basado en la conjugación bacteriana.

Andrea Fernández-Goméz, Dolores L. Guzmán-Herrador, Matxalen Llosa Blas

*Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria. Universidad de Cantabria. Santander.
E-mail de contacto: matxalen.llosa@unican.es*

Los sistemas CRISPR-Cas han supuesto una revolución en el campo de la edición genética. Aparte del uso de Cas como endonucleasas sitio-específicas, se han desarrollado modificaciones del sistema más eficientes y específicas, como los editores de bases, formados por citidina o adenina desaminasas unidas a una versión catalíticamente inactiva de la proteína Cas (dCas). Estos sistemas permiten la sustitución, guiados por un RNA guía, de una base concreta por otra en la secuencia diana.

Una de las limitaciones de estos sistemas concierne al método de envío *in vivo* de la herramienta (proteína Cas y RNA guía). Nosotros proponemos utilizar la conjugación bacteriana. Mediante este proceso, un complejo nucleoproteico compuesto por una relaxasa y la molécula de ADN a transferir, es translocado a una bacteria receptora. Hemos fusionado Cas12a a la relaxasa TrwC (Relaxasa-Cas) y hemos comprobado la actividad Cas en la célula receptora.

En este trabajo, hemos fusionado TrwC con un editor de bases formado por una citidina deaminasa y dCas12a. La fusión mantiene su actividad relaxasa y desaminasa, y es translocada por conjugación a una célula receptora. Expresando un RNA guía frente a *lacZ* en la receptora, hemos detectado en los transconjugantes edición del gen diana dentro de la ventana de actuación del editor.

Este novedoso sistema permite enviar herramientas CRISPR-Cas sin necesidad de expresar el gen de la nucleasa en la célula diana, utilizando la molécula de ADN transferida con Relaxasa-Cas para codificar el RNA guía. Así lograremos modificar genéticamente bacterias silvestres y recalcitrantes a la transformación.

P36. Estudio de la evolución de endonucleasas asociadas a CRISPR mediante técnicas de resurrección de proteínas ancestrales.

Borja Alonso-Lerma^{1,#}, Ylenia Jabalera^{1,#}, **Sara Samperio**¹, Matias Morin², Almudena Fernandez³, Logan T. Hille^{4,5}, Rachel A. Silverstein^{4,5}, Ane Quesada-Ganuza¹, Antonio Reifs¹, Sergio Fernández-Peñalver², Yolanda Benitez^{3,6}, Lucia Soletto², Jose A Gavira⁷, Adrian Diaz^{8,9}, Wim Vranken^{8,9,10}, Avencia Sanchez-Mejias¹¹, Marc Güell^{11,12}, Francisco JM Mojica¹³, Benjamin P. Kleinstiver^{4,14}, Miguel A Moreno-Pelayo², Lluís Montoliu³, Raul Perez-Jimenez^{1,15}

¹CIC nanoGUNE BRTA; San Sebastian, Spain; ²Servicio de Genética, Hospital Universitario Ramón y Cajal, IRYCIS and Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Raras (CIBERER); Madrid, Spain; ³Department of Molecular and Cellular Biology, National Centre for Biotechnology (CNB-CSIC) and Centre for Biomedical Network Research on Rare Diseases (CIBERER-ISCI); Madrid, Spain; ⁴Center for Genomic Medicine and Department of Pathology, Massachusetts General Hospital; Boston, MA, 02114, USA; ⁵PhD Program in Biological and Biomedical Sciences, Harvard University; Boston, MA, 02115, USA; ⁶INGEMM, Hospital Universitario La Paz, CIBERER-ISCI; Madrid, Spain; ⁷Laboratorio de Estudios Cristalográficos, IACT (CSIC-UGR); Armilla, Granada, Spain; ⁸Interuniversity Institute of Bioinformatics in Brussels, ULB-VUB; Brussels 1050, Belgium; ⁹Structural Biology Brussels, Vrije Universiteit Brussel; Brussels 1050, Belgium; ¹⁰Structural Biology Research Centre, VIB; Brussels 1050, Belgium; ¹¹Integra Therapeutics S.L.; Barcelona, Spain; ¹²Department of Medicine and Life Sciences, Universitat Pompeu Fabra; Barcelona, Spain; ¹³Dpto. Fisiología, Genética y Microbiología and Instituto Multidisciplinar para el Estudio del Medio "Ramón Margalef", Universidad de Alicante; Alicante, Spain; ¹⁴Department of Pathology, Harvard Medical School; Boston, MA, 02115, USA; ¹⁵Ikerbasque Foundation for Science; Bilbao, Spain; # These authors contributed equally to the work.

E-mail de contacto: r.perezjimenez@nanogune.eu

La proteína asociada a CRISPR Cas9 es una enzima efectora responsable de escindir ADN invasor, ejerciendo un papel importante en el sistema inmunitario en procariontes. La proteína Cas9 de *Streptococcus pyogenes* ha sido ampliamente estudiada y rediseñada para diversas aplicaciones, sin embargo, su origen y evolución son aún poco conocidos. En este trabajo, investigamos la evolución de las proteínas Cas9 a partir de nucleasas ancestrales resucitadas (anCas) pertenecientes a especies extintas de firmicutes que vivieron por última vez hace 2,6 billones de años. Estas formas ancestrales han demostrado ser mucho más flexibles en su ARN guía y tener requisitos más laxos en los motivos adyacentes al protoespaciador (PAMs). Además, mostramos como las anCas presentan una adaptación paleoenzimática gradual de nickasa a endonucleasa, exhiben altos niveles de actividad con ADN y ARN monocatenario y pueden editar células humanas.

P37. El plasmidoma de la familia *Erwiniaceae*.

Santiago Redondo-Salvo^{1,2}, Irene Sanz Puente¹, Marta Robledo Garrido², M. Pilar Garcillán-Barcia¹ y Fernando de la Cruz¹

¹Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, (CSIC, Universidad de Cantabria), Santander.

²Biomar Microbial Technologies, León.

E-mail de contacto: santiago.redondo@unican.es

El concepto de Unidad Taxonómica Plasmídica (PTU) permite la comparación del plasmidoma de diferentes grupos bacterianos para obtener información acerca de su contribución al hospedador. Aquí describimos el contenido plasmídico de la familia taxonómica *Erwiniaceae*, que incluye bacterias altamente especializadas en su interacción con plantas, ya sean fitopatógenos o endosimbiontes de insectos asociados a plantas. El plasmidoma de *Erwiniaceae* contiene 258 plásmidos (datos de RefSeq v200), 53% de ellos se pueden asignar a una de las 22 PTU existentes en esta familia. Las capacidades conjugativas, el rango mínimo de hospedador, el proteoma de estas PTU y otras especificidades del genoma accesorio de *Erwiniaceae* se analizan en este trabajo.

P38. Estudio del crecimiento en cianobacterias a nivel unicelular.

Carlos Díaz, Miguel Báez, Alfonso Mendaña, Raquel Gutiérrez, Víctor Campa, Marina Domínguez, Fernando de la Cruz y Raúl Fernández.

*Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC) Universidad de Cantabria. Santander, Cantabria.
Grupo Intergenómica.
E-mail de contacto: carlos.diaz@unican.es*

Las cianobacterias son los únicos procariontes capaces de realizar la fotosíntesis oxigénica. Su capacidad para fijar el CO₂ atmosférico y su versatilidad metabólica los convierten en candidatos para el desarrollo de una biotecnología sostenible y verde. Un obstáculo importante en su uso como plataformas biotecnológicas reside en su tasa de crecimiento relativamente lenta, en comparación con otros modelos procariontes heterótrofos. Al depender de los ciclos luz/oscuridad para su crecimiento, el genoma y la fisiología de las cianobacterias tienen un marcado carácter circadiano. Esto se manifiesta en una fase de detención durante varias horas del día, reduciendo su tasa de crecimiento. Para solventar este problema, se realizó un experimento de evolución con *Synechococcus elongatus*. Se demostró que una cepa evolucionada durante 1000 generaciones bajo luz continua duplicaba la tasa de crecimiento del antepasado. En este trabajo caracterizamos a nivel unicelular la tasa de crecimiento de ambas cepas, ancestral y evolucionada. Utilizamos microscopía de fluorescencia *time-lapse* para obtener tasas de crecimiento y tiempos de división unicelular. Nuestros resultados mostraron que la ventaja de crecimiento de la cepa evolucionada era específica de la condición de selección y probablemente dependiente de la suplementación con CO₂. También desarrollamos una plataforma basada en microfluídica para la observación del crecimiento de cianobacterias en canales confinados. Sorprendentemente, este dispositivo inhibió su crecimiento. Nuestros resultados sugirieron que ni la geometría ni el material fueron responsables de la inhibición, destacando la dependencia del crecimiento en las condiciones experimentales específicas.

Pósteres Medio Ambiente y Alimentos

P39. Diversidad de microorganismos filamentosos en sedimentos de estuarios vascos: Análisis genómico de la capacidad de degradar polisacáridos marinos y producir metabolitos secundarios.

A. Otamendi¹, **Z. Agirrezabala**¹, C. Perez-Cruz², R. Liébana², A. Lanzén^{2,3}, L. Alonso-Sáez², MT. Dueñas¹, O. Etxebeste¹

¹Laboratory of Biology, Department of Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, University of the Basque Country (UPV/EHU), 20018 San Sebastian.

²AZTI, Marine Research, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Sukarrieta.

³IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, Bizkaia.

E-mail de contacto: oier.echeveste@ehu.eus

Los entornos marinos albergan una amplia diversidad de microorganismos. Los hongos y las bacterias que habitan los ecosistemas marinos desempeñan un papel relevante en el reciclaje de nutrientes y en las redes tróficas. Por otro lado, los microorganismos marinos han tenido que desarrollar recursos genéticos que les permitieran adaptarse a condiciones de estrés como, por ejemplo, elevadas concentraciones de sales, agotamiento de nutrientes o la necesidad de degradar sustratos poliméricos recalcitrantes. Estos factores hacen que hongos y bacterias marinas sean considerados una importante fuente de nuevas herramientas biotecnológicas. El estudio de los microorganismos marinos se ha centrado principalmente en las bacterias, y son unos pocos cientos las especies fúngicas aisladas de entornos marinos; todo ello, a pesar de que el reino Fungi está compuesto por millones de especies. En este trabajo se han aislado microorganismos filamentosos a partir de muestras de sedimentos recogidos en estuarios del País Vasco. Su caracterización fenotípica permitió la identificación de cepas capaces de degradar polisacáridos complejos o de producir metabolitos secundarios. Dos de los aislados (*Marquandomyces marquandii* y *Albophoma yamanashiensis*) pertenecen al orden de los Hypocreales, mientras que un tercero es una cepa del género *Streptomyces*. El análisis y comparación de sus CAZYmes y clusters del metabolismo secundario sugieren que estos aislados podrían ser utilizados como fuente de nuevas actividades enzimáticas y metabolitos secundarios.

P40. El tejón europeo como excretor de micobacterias en el País Vasco.

Lucía Varela-Castro¹, Charlène Corbin^{1,2}, Xeider Gerrikagoitia¹, Vega Álvarez¹, Iker A Sevilla¹, Marta Barral¹

¹Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

²Université Clermont Auvergne, Francia.

E-mail de contacto: lucia.varela.castro@gmail.com

El tejón (*Meles meles*) se considera reservorio de *Mycobacterium bovis* en Reino Unido e Irlanda, y se ha documentado su infección con micobacterias no tuberculosas (MNT) como *Mycobacterium avium*. Sin embargo, existe poca información sobre la excreción de micobacterias con las heces. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de micobacterias en heces de tejón del País Vasco. Se analizaron 94 muestras de heces (2010-2021) de cadáveres, tejones vivos y letrinas mediante qPCR directa para la detección de ADN de micobacterias, y 75 de ellas fueron cultivadas para el aislamiento de micobacterias, identificándose a nivel de especie mediante la secuenciación parcial del gen *rpoB*. Se detectaron micobacterias en el 94,7% (89/94) de las muestras estudiadas y se aislaron en el 45,3% (34/75) de las muestras inoculadas. La eficacia del aislamiento fue mayor para las heces obtenidas de letrinas que para las de cadáveres (66,7% vs. 33,3%, $p = 0,0054$). No se detectaron micobacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis*, pero se identificaron 11 especies de MNT, siendo *M. avium* la más frecuente ($n = 26$). Generalmente, en cada muestra se identificó una única especie de micobacteria (78,6%), aunque en el 18% de las muestras se identificaron dos y en el 3,4% hasta tres especies. De acuerdo con estos hallazgos resulta necesario profundizar en el estudio de las micobacterias presentes en el tejón, ya que trabajos previos sugieren que sus letrinas podrían ser puntos de contacto entre tejón, jabalí y zorro en granjas bovinas del País Vasco y por tanto de exposición a micobacterias.

P41. Aislamiento e identificación de los hongos filamentosos ambientales con potencial resistencia a voriconazol en muestras de aire de la Comunidad Autónoma Vasca.

Saioa Cendon-Sanchez¹, Eduardo Pelegri-Martinez¹, Uxue Perez-Cuesta¹, Xabier Guruceaga², Andoni Ramirez-Garcia¹, Ana Abad-Diaz-De-Cerio¹, Aitor Rementeria¹

¹*Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa.*

²*Department of Clinical Pharmacy and Translational Science, Pharmacy College, UTHSC, Memphis, TN, EEUU.
E-mail de contacto: saioa.cendon@ehu.eus / ana.abad@ehu.eus / aitor.rementeria@ehu.eus*

Actualmente, la resistencia a los antifúngicos, entre ellos los azoles, supone un problema a nivel mundial. El desarrollo de estas resistencias se debe a un doble origen: una vía clínica, por el prolongado tratamiento de los pacientes en riesgo; y, una vía ambiental, debido al uso de estos compuestos en la agricultura. Es importante conocer la prevalencia de la resistencia a estos antifúngicos en el medio ambiente. Con este objetivo se analizaron muestras de aire en noviembre de 2021 y en febrero de 2022 utilizando el MAS-100 Eco Air Sampler en 3 áreas diferentes (entorno hospitalario, rural y urbano) en cada provincia del País Vasco (Araba, Bizkaia y Gipuzkoa). En estos muestreos, se aislaron un total de 45 hongos filamentosos capaces de crecer en medio Sabouraud suplementado con voriconazol (1 mg/L). De estos aislados se identificaron un total de 26 especies distribuidas en 14 géneros, siendo *Talaromyces* (37,77%) y *Alternaria* (17,77%) los géneros mayoritarios. Asimismo, se detectaron hongos patógenos oportunistas como *Aspergillus fumigatus* que presentan potencial resistencia a estos antifúngicos. En conclusión, este estudio pone de manifiesto la importancia de realizar muestreos de aire para identificar hongos filamentosos resistentes a azoles, uno de los riesgos recogidos por la OMS en su informe sobre la prioridad de los patógenos fúngicos recientemente publicada.

P42. Estudio de la viabilidad y presencia de *Coxiella burnetii* en el medio natural.

Ion I. Zendoia, Jesús F. Barandika, Aitor Cevidanes, Ana Hurtado, Ana L. García-Pérez

Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

E-mail de contacto: izendoia@neiker.eus

La fiebre Q es una zoonosis de distribución mundial causada por *Coxiella burnetii* que puede infectar a mamíferos, aves, reptiles y artrópodos. Euskadi es considerada zona endémica y cada año se detectan casos y/o brotes humanos. La fuente principal de infección son los rumiantes domésticos, especialmente el ganado ovino y caprino. Con objeto de conocer cuánto tiempo permanece viable *C. burnetii* en el entorno natural, en este trabajo presentamos los resultados de los muestreos medioambientales realizados en el contexto del mayor brote humano de fiebre Q descrito en España. El brote, acontecido en 2021, se relacionó con actividades de ocio en el interior de una cueva localizada en Bizkaia, habitualmente usada por el ganado como cobijo. Se tomaron muestras ambientales (polvo y aerosoles) en 8 visitas realizadas a la cueva entre marzo de 2021 y septiembre de 2022, periodo en el que ya no tenía acceso el ganado. El análisis mediante PCR a tiempo real confirmó la presencia de la bacteria en todos los muestreos, y mediante análisis de SNPs se identificó un genotipo de *C. burnetii* común entre los pequeños rumiantes del territorio (SNP-8). Posteriormente, para investigar si el ADN detectado pertenecía a bacterias viables se realizaron cultivos celulares a partir de las muestras de polvo. A falta de concluir el cultivo de la muestra de septiembre de 2022, se demostró crecimiento de *C. burnetii* en todas las muestras. Los resultados indican que *C. burnetii* ha permanecido viable durante al menos 16 meses en el interior de la cueva.

P43. Modelo de infección en *Galleria mellonella* para evaluar la virulencia de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* y la eficacia de tratamientos contra la infección.

Estibaliz Ruiz¹, Gaizka Carregal², Amaia Lasagabaster¹ y Estibaliz Mateo²

¹Calidad, Seguridad e Identidad Alimentaria, AZTI, Derio (Bizkaia).

²Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa (Bizkaia).

E-mail de contacto: eruiz@azti.es, alasa@azti.es, estibaliz.mateo@ehu.eus

Campylobacter, en particular las especies *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, son el agente causal de una de las enfermedades transmitidas por los alimentos más prevalente a nivel mundial, la campilobacteriosis. Este patógeno zoonótico ha sido incluido por la Organización Mundial de la Salud en su lista de bacterias prioritarias resistentes y multirresistentes a los antibióticos disponibles, con el fin urgente de buscar soluciones para su control. Los bacteriófagos específicos contra *Campylobacter*, campylofagos, se muestran como una prometedora solución para hacer frente tanto a los problemas de salud humana, como a los de sanidad animal y la seguridad alimentaria. El objetivo de este trabajo fue evaluar la virulencia de *Campylobacter* y la eficacia de tratamientos con campylofagos y antibióticos de uso habitual en un modelo de infección en *Galleria mellonella*. Se analizó la virulencia de 13 cepas de *Campylobacter* spp. y se evaluó la eficacia de los antibióticos ciprofloxacino y la eritromicina, así como de un cóctel de bacteriófagos con actividad específica frente a este patógeno tanto en monoterapia como en combinación. Este modelo invertebrado fue susceptible a la infección por *C. jejuni* y *C. coli*. Además, ambos antibióticos en monoterapia, como el tratamiento combinado de antibiótico y bacteriófagos, resultaron eficaces para controlar la infección por *C. jejuni*. Por tanto, los resultados obtenidos sugieren que *G. mellonella* es un modelo apropiado y simple para estudiar la virulencia de *Campylobacter* y para analizar *in vivo* la eficacia de los tratamientos contra la campilobacteriosis.

P44. Efecto de distintos contaminantes emergentes, antibióticos, desinfectantes y fármacos, en la diseminación de la resistencia a antibióticos.

Ana Rey Sogo¹, Marta García Castrillo¹, Uxue Sacristán Uncilla¹, Carlos Garbisu Crespo², Lide Arana Urbieta³, Miren Itziar Alkorta Calvo¹

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao.

²Departamento de Conservación de los Recursos Naturales, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

³Departamento de Química Aplicada, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Donostia.

E-mail de contacto: anareisogo@gmail.com

Las bacterias resistentes a antibióticos causan alrededor de 700.000 muertes al año. De hecho, OMS define la resistencia a antibióticos como una de las mayores amenazas sanitarias. El mal uso y abuso de los antibióticos, de otros fármacos y, por la pandemia COVID-19, de desinfectantes, ha aumentado la concentración de contaminantes en el medio ambiente, originando una presión ecológica necesaria para seleccionar bacterias resistentes. La conjugación bacteriana es el principal mecanismo responsable de la rápida diseminación de la resistencia a antibióticos entre bacterias.

El objetivo de este trabajo es determinar si concentraciones sub-inhedoras de contaminantes emergentes como la tetraciclina, antibiótico de amplio espectro; el cloruro de benzalconio, desinfectante frecuentemente empleado; y la carbamazepina, antiepiléptico ampliamente prescrito; tienen un efecto en la diseminación de la resistencia a antibióticos.

Para ello se determinó la concentración sub-inhedoras de cada compuesto para las cepas de *Escherichia coli* que contenía alguno de los seis plásmidos conjugativos mejor descritos (RP4, pOX38Km, R1, pKM101, R6K y R388). Posteriormente, se realizaron experimentos de conjugación bacteriana a concentraciones por debajo de las sub-inhedoras definidas previamente. Se observó que el cloruro de benzalconio y la carbamazepina aumentaban 100 y 1000 veces, respectivamente la frecuencia de conjugación del plásmido pKM101. Proyectos con los que se ha financiado este trabajo: Proyecto del Ministerio de Ciencia e Investigación PID2020-116495RB-I00 y proyecto del Departamento de Educación, Universidades e Investigación (Gobierno Vasco) IT1578-22.

P45. Sabemos quiénes son; ahora queremos saber qué están haciendo.

Ion L. Abad¹, Leire Garate¹, Ramiro Logares², Thorsten Stoeck³, Anders Lanzén^{1,4}

¹AZTI, Investigación Marina, Basque Research and Technology Alliance (BRTA) Pasaia, Gipuzkoa.

²Institut de Ciències Marines (ICM), CSIC, Barcelona, Catalunya.

³Departamento de Ecología, Technische Universität Kaiserslautern, Kaiserslautern, Rheinland-Pfalz, Alemania.

⁴IKERBASQUE – Basque Foundation for Science, Bilbao, Bizkaia.

E-mail de contacto: iabad@azti.es.

Los ecosistemas costeros y estuarinos son hábitats complejos amenazados por el cambio climático y la actividad humana. El estudio de comunidades microbianas nos ayuda a comprender el funcionamiento y estado de estos hábitats diversos y gracias a técnicas basadas en ADN ambiental (eDNA) podemos estudiar una mayor parte de la biodiversidad para obtener una imagen más holística del ecosistema. En este estudio nos hemos enfocado en bentos de estuarios, un ecosistema clave al ser la base de la cadena trófica y los ciclos biogeoquímicos, que hasta ahora sigue infra-estudiado. Hemos ido más allá del estudio taxonómico por “metabarcoding” y hemos aplicado metagenómica, es decir secuenciar todo el eDNA genómico de la comunidad, incluso genes funcionales. Así hemos estudiado dos series temporales de muestras bentónicas de los estuarios de Bidasoa y Oiartzun. Con estas series hemos construido redes de asociación de funciones metabólicas para encontrar funciones clave con mayor número de interacciones funcionales. Hemos comprobado también que la variación de la alfa diversidad funcional es similar en ambos estuarios siendo estos estables durante la serie temporal, y con mayor similitud entre muestras temporalmente distintos del mismo estuario, comparado con muestras de distintos estuarios, aunque de la misma fecha. La topología de las redes de grupos de genes funcionales es distinta entre ambos estuarios y revela funciones clave y conectoras diferentes. Este es un ejemplo de cómo la teoría de redes aplicada a series temporales puede revelar distintas comunidades efectuando diferentes funciones debido a diferentes estados ecológicos.

P46. Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en suelos metalíferos.

Patirke Ibarondo, Aitor Anitua, Lur Epelde, Carlos Garbisu, Mikel Anza

*Departamento de Conservación de los Recursos Naturales, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.
E-mail de contacto: manza@neiker.eus*

Phy2SUDOE es un proyecto europeo que pretende valorizar emplazamientos contaminados con metales-metaloides y/o compuestos orgánicos en la región SUDOE mediante el empleo de estrategias de fitogestión encaminadas a la generación de productos y servicios ecosistémicos en dichos emplazamientos, a la vez que se minimiza el impacto ambiental que los contaminantes pudieran ocasionar. Uno de los objetivos del proyecto consiste en implantar estrategias de conservación de la biodiversidad endémica propia de algunos emplazamientos contaminados por su valor intrínseco y utilitario (e.g., aplicaciones biotecnológicas). Como parte de este objetivo, se ha trabajado en el aislamiento y caracterización de bacterias de entornos metalíferos según su capacidad para promover el crecimiento vegetal, para su posible aplicación en estrategias de fitorremediación. Entre los rasgos de promoción del crecimiento vegetal determinados se encuentran (i) la actividad ACC-deaminasa, (ii) la producción de ácido indol-3-acético, (iii) la producción de sideróforos, (iv) la solubilización de fosfato inorgánico y (v) la formación de biofilm, entre otros. Además, se ha evaluado la compatibilidad de las cepas más prometedoras con la finalidad de que puedan inocularse como consorcios bacterianos.

P47. Aislamiento y caracterización de bacteriófagos para el control de enfermedades infecciosas bacterianas en acuicultura.

María Lavilla, Cristina García, Vasco Martins, Amaia Lasagabaster

Calidad, Seguridad e Identidad Alimentaria, AZTI-BRTA, Derio, Bizkaia.
E-mail de contacto: mlavilla@azti.es / alasa@azti.es

La vibriosis, responsable de importantes pérdidas económicas en acuicultura, es un problema cada vez más frecuente debido al incremento de la producción acuícola y al aumento de la temperatura del agua causado por el cambio climático. Con solo unos pocos antibióticos aprobados para acuicultura, y con un uso cada vez más restringido para limitar la aparición y diseminación de resistencias, se hace necesario disponer de nuevas alternativas viables para el tratamiento de brotes infecciosos. Así, el objetivo de este trabajo es el aislamiento de fagos potencialmente líticos, para su posterior caracterización y evaluación como potencial agente de tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas en acuicultura. Como resultado de este trabajo, hasta la fecha se han aislado y purificado un total de 54 fagos estables contra *Vibrio harveyi* y *Vibrio anguillarum*, en su mayoría, de muestras ambientales. También se han aislado fagos de entornos de producción acuícola y de peces (muestras comerciales). Los fagos aislados muestran diferentes morfologías de calvas (zonas de inhibición/muerte de la bacteria diana) y se ha iniciado su caracterización mediante la determinación de su Rango de Hospedador. El aislamiento de fagos es el primer paso hacia su posterior caracterización completa, el futuro escalado de su producción y la realización de pruebas de efectividad *in vivo*, con la finalidad de obtener un banco de fagos completamente caracterizados, efectivos y seguros.

P48. Virus Hepatitis E: circulación entre los ungulados silvestres del País Vasco.

Xeider Gerrikagoitia, Irati Lakunza, Vega Álvarez, Marta Barral

Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

E-mail de contacto: xgerrikagoitia@neiker.eus

El virus de hepatitis E (VHE) es un virus de la familia *Hepeviridae* que causa una hepatitis viral aguda en el ser humano. En Europa se considera una enfermedad emergente y se describen cada vez más casos vinculados a la transmisión zoonótica, donde la infección puede ocurrir por el consumo de carne cruda o poco cocinada de cerdos domésticos o de ungulados silvestres. Aunque se ha comprobado que el jabalí es el principal reservorio silvestre del VHE en Europa, hasta la fecha no existen datos acerca de su situación en el norte de España, por lo que en este trabajo se pretende determinar la prevalencia del VHE en distintas especies de ungulados silvestres, así como su distribución espacial y temporal en el País Vasco.

Se analizaron 1846 muestras de suero mediante ELISA (1740 jabalíes, 70 corzos, 36 ciervos) y 141 muestras de hígado mediante RT-qPCR (110 jabalíes, 27 corzos, 4 ciervos), recogidas entre 2010 y 2021. La seroprevalencia global fue del 6,3%, siendo mayor en los jabalíes (6,5%, 115/1740) que en los cérvidos (0,9%, 1/106) ($p < 0,05$). También se detectaron diferencias significativas en relación con la edad, el año o la provincia ($p \leq 0,005$). Todas las muestras fueron negativas mediante RT-qPCR.

A pesar de la baja prevalencia detectada, los resultados obtenidos ponen en evidencia que el virus está bien asentado en la población de jabalíes de Euskadi. Serían necesarios más estudios para conocer el posible impacto en los cazadores o en aquellos que consumen carne de caza.

P49. Impacto de la antropización sobre el microbioma de la abeja: implicaciones para su salud.

June Gorrochategui-Ortega¹, Marta Muñoz-Colmenero², Melanie Parejo¹, Andone Estonba¹, Iratxe Zarraonaindia^{1,3}

¹Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias y Tecnología, Leioa.

²Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

³IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao.

E-mail de contacto: june.gorrochategui@ehu.eus

El microbioma intestinal de la abeja *Apis mellifera* está estrechamente ligado a su salud e interactúa con otros microbiomas del colmenar. Las prácticas antrópicas tienen un impacto adverso sobre estos microorganismos, influyendo en su diversidad y composición, comprometiendo así la salud de las abejas. En el proyecto que presentamos hemos estudiado la evolución de las comunidades bacterianas y fúngicas de colmenas bajo diferentes niveles de antropización (agrícola, semi-natural, natural) caracterizando la microbiota presente en el estómago de la abeja y en múltiples nichos del colmenar (pan de abeja, entrada al colmenar, aire del interior de la colmena) durante 3 años mediante la secuenciación de las regiones 16S rRNA e ITS2. Los resultados iniciales indican que el ambiente agrícola induce una disbiosis en el bacterioma de las colmenas, provocando una disminución significativa de bacterias beneficiosas (e.g. *Lactobacillus*). Las colmenas localizadas en el ambiente semi-natural, tras solo 16 días, presentaban perfiles microbianos intermedios: bacterias y rutas metabólicas con abundancias intermedias entre muestras naturales y agrícolas. La identificación de marcadores de antropización podría facilitar el desarrollo de técnicas dirigidas a evaluar la salud del colmenar, así como a la identificación de dianas microbiológicas para el desarrollo de probióticos.

P50. Uso de la tecnología de secuenciación de fragmentos largos, Oxford-Nanopore, como herramienta diagnóstica para la mamitis bovina.

Leire Urrutia-Angulo¹, Medelin Ocejo¹, Beatriz Oporto¹, José Luis Lavín², Ana Hurtado¹

¹*Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

²*Departamento de Matemática Aplicada, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

E-mail de contacto: ahurtado@neiker.eus

La mamitis es una enfermedad importante y principal causa de uso de antimicrobianos en el ganado vacuno lechero. Los métodos convencionales de aislamiento bacteriano no siempre consiguen determinar el agente etiológico. La secuenciación dirigida al gen ARNr 16S utilizando la tecnología de secuenciación de fragmentos largos Oxford-Nanopore (ONT-16S *metabarcoding*) supone una alternativa para la rápida detección bacteriana y caracterización poblacional. A diferencia de la secuenciación de fragmentos cortos que solo cubre regiones parciales del gen, ONT permite secuenciar el gen ARNr 16S completo proporcionando mayor resolución taxonómica. Para evaluar el potencial de ONT-16S *metabarcoding* para caracterizar la dinámica de la comunidad microbiana implicada en la mamitis bovina, se analizaron 281 muestras de leche de animales sanos o con mamitis (clínica o subclínica) recogidas durante las distintas fases de lactación. Se generaron 12.894.426 lecturas (mediana: 46.632 lecturas/muestra), 46,2% correspondientes a arqueas (0,2% OTUs) y 53,8% a bacterias (99,8% OTUs). Los índices de diversidad alfa (Chao1 y Shannon) mostraron diferencias entre grupos y fases de ordeño, siendo la riqueza y la uniformidad menores en el pico de lactación de animales enfermos. En cuanto a la composición microbiana, no se observaron grandes diferencias entre animales sanos y con mamitis al inicio y al final de la lactación, pero ésta difirió en el pico de la lactación en animales enfermos, fundamentalmente por una mayor proporción de la familia Enterobacteriaceae. Esta técnica permitió una asignación taxonómica de alta resolución (i.e., 70,7% a nivel de especie), evidenciando la complejidad y diversidad de la comunidad microbiana en ubres sanas y enfermas.

P51. Uso de secuenciación de genoma completo de fragmentos largos para monitorizar la dinámica poblacional de *Campylobacter* resistentes a antimicrobianos en granjas de vacuno lechero

Medelin Ocejo¹, Maitane Mugica¹, Beatriz Oporto¹, José Luis Lavín², Ana Hurtado¹

¹Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

²Departamento de Matemática Aplicada, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

E-mail de contacto: mocejo@neiker.eus

Campylobacter jejuni (Cj) y *C. coli* (Cc) son importantes patógenos zoonóticos de transmisión alimentaria y causa de preocupación debido al incremento de resistencias antimicrobianas (RAM). Para investigar la dinámica de infección por *Campylobacter* resistentes en las granjas de bovino lechero se recogieron heces de terneras, novillas y vacas en lactación de 5 granjas (12 muestreos-16 meses). El perfil fenotípico de RAM se determinó a partir de las concentraciones mínimas inhibitorias de 221 aislados (176 Cj; 45 Cc) que se interpretaron según los puntos de corte epidemiológicos. El genoma completo de 56 aislados de 2 granjas se secuenció usando la tecnología de secuenciación de fragmentos largos Oxford-Nanopore (ONT). Cj fue aislado de las 5 granjas mientras que Cc solo de dos. La RAM fue más alta en Cc que en Cj y en terneras que en animales adultos. Se detectaron 7 genes de resistencia (*aadE-Cc*, *ant(6)-Ia*, *aph(3')-III*, *bla_{OXA-184}*, *bla_{OXA-61-like}*, *tet(O)* y *tet(O/32/O)*) y mutaciones cromosómicas en 2 genes (*gyrA* y *rpsL*) asociados a resistencia a 4 clases de antimicrobianos. La distribución y localización (cromosómica/plasmídica) de los determinantes genéticos de resistencia varió entre ambas especies de *Campylobacter* y granjas. Se detectaron 11 tipos de MLST en Cj y 2 en Cc con diferente grado de diseminación y permanencia en cada granja. Se observó la persistencia de ciertos genotipos a lo largo del estudio, mientras que otras cepas solo se detectaron esporádicamente. La monitorización con secuenciación ONT ayudó a descifrar la compleja epidemiología molecular subyacente en la diseminación de RAM dentro de la granja.

P52. Dinámica de infección y perfiles de resistencia antimicrobiana en *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* de cinco granjas de ganado bovino lechero.

Beatriz Oporto¹, Maitane Mugica¹, José Luis Lavín², Medelin Ocejo¹, Ana Hurtado¹

¹Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

²Departamento de Matemática Aplicada, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.

E-mail de contacto: ahurtado@neiker.eus

Los animales pueden actuar como reservorio de *Enterococcus faecalis* (*Efs*) y *Enterococcus faecium* (*Efm*), patógenos oportunistas responsables de numerosas infecciones intrahospitalarias multirresistentes. Para estudiar la dinámica de infección y los perfiles de resistencia de *Efs* y *Efm* en el ganado bovino lechero se recogieron heces de animales sanos (terneros, novillas y vacas en lactación) en 5 granjas durante 3-10 meses. Se determinó la concentración mínima inhibitoria de un aislado por granja, muestreo, grupo de edad y especie (44 *Efs* y 82 *Efm*) y se secuenciaron 32 genomas usando la tecnología Oxford-Nanopore (ONT). Todos los aislados fueron sensibles a ampicilina, daptomicina, teicoplanina, tigeciclina y vancomicina. La prevalencia y diversidad de perfiles de resistencia fueron mayores en *Efs* que en *Efm*, y en terneros que en otras edades. Todos los *Efs* resistentes mostraron resistencia a tetraciclina y en *Efm* predominó la resistencia a eritromicina. La tecnología ONT permitió la secuenciación completa y circularización de cromosomas y plásmidos. Se identificaron 21 genes de resistencia (ARGs) y SNPs en otros 2 genes asociados a resistencia a 10 clases antimicrobianas, mostrando una buena concordancia con la resistencia fenotípica. La mayoría de los ARG adquiridos se localizaron en plásmidos, siendo *tet(M)* en *Efs* la única excepción. Se observó gran diversidad genómica (MLST: 10 en *Efs* y 8 en *Efm*), aunque ocasionalmente se obtuvieron aislados muy similares en animales de diferentes grupos de edad de la misma granja. El análisis taxonómico y filogenético de los genomas permitió confirmar la re-asignación del clado B de *Efm* (generalmente sensible a los antimicrobianos) a la especie *E. lactis*.

P53. Transferencia de ADN por conjugación de *E. coli* a Lactobacilos resistentes a la transformación.

Sara Samperio¹, Silvia Calero¹, Dolores L. Guzmán-Herrador¹, Miguel A. Álvarez² y Matxalen Llosa¹

¹Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC), Universidad de Cantabria-CSIC-SODERCAN, Santander.

²Instituto de Productos Lácteos (IPLA-CSIC), Villaviciosa.

E-mail de contacto: matxalen.llosa@unican.es

Entre las bacterias del antiguo género *Lactobacillus*, clasificado actualmente en 25 géneros distintos, se incluyen especies altamente relevantes para las industrias alimentaria y farmacéutica. Sin embargo, las herramientas de modificación genética son escasas y la mayoría de ellas únicamente están disponibles para cepas de laboratorio. Las cepas silvestres, a menudo más relevantes biotecnológicamente, son típicamente recalcitrantes a la transformación. Proponemos la conjugación intergenérica como método alternativo para la modificación genética de lactobacilos. Utilizando *Escherichia coli* como donadora, transferimos plásmidos anfibios movilizables por el sistema conjugativo de RP4 o de R388. Hemos obtenido transconjugantes, comprobados a nivel molecular, en todas las cepas de *Lactocaseibacillus casei* testadas y de otros géneros, incluyendo *Lentilactobacillus parabuchneri*, especie relevante en la producción de quesos y hasta ahora imposible de modificar genéticamente por transformación. Por serendipia, también encontramos transconjugantes a *Staphylococcus epidermidis* contaminantes. *S. epidermidis* es un potencial patógeno humano para el que no existen herramientas de modificación genética. Hemos confirmado la conjugación de *E. coli* a *S.epidermidis* mediante los sistemas R388 y RP4. Este hallazgo fortuito sugiere que este protocolo de conjugación sea aplicable a multitud de receptoras Gram positivas resistentes a la transformación. Actualmente estamos explorando la conjugación como mecanismo de modificación de bifidobacterias probióticas no transformables.

P54. Proyecto ReCROP: Mejorando la diversidad microbiana del suelo en agroecosistemas mediterráneos.

L Epelde¹, **A Anitua**¹, M Anza¹, C Garbisu¹, Á Prieto-Fernandez², MC Monterroso Martínez², B Rodríguez-Garrido², C Trasar Cepeda², S González-Prieto², J Cortet³, N Delcourt³, N Kadiri³, A Vergnes³, S Roussel⁴, T Blayac⁴, E Lavaine⁴, A Boularbah⁵, L Benidire⁵, FZ El Balghiti⁵, M Allani⁶, S Soufi⁶, T Bettaieb⁶, A Sahli⁶, WM Semida⁷, TA Abd El-Mageed⁷, MA Abdulfattah⁷, R Alves⁸, M Oliveira⁹, C Santos⁹, E Tassi¹⁰, F Bretzel¹⁰, LP D'Acqui¹⁰, R Pini¹⁰, S di Lonardo¹⁰, J Cortez¹¹, E Cardoso¹¹, H Moreira¹¹, SIA Pereira¹¹, PML Castro¹¹

¹ Departamento de Conservación de Recursos Naturales, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia, Spain; ² MBG-CSIC sede Santiago de Compostela, Avda. de Vigo s/n, 15705 Santiago de Compostela, Spain; ³ CEFE, Univ Montpellier, Cnrs, Ephe, Ird, Univ Paul Valéry – Montpellier, France; ⁴ CEE-M, Univ. Montpellier, CNRS, INRAE, Institut Agro, Univ. Paul Valéry Montpellier 3 – Montpellier, France; ⁵ FSTG - Faculté des Sciences et Techniques, Université Cadi Ayyad, Morocco; ⁶ INAT-National Agronomic Institute of Tunisia, Carthage University, Tunisia; ⁷ FOAFU - Fayoum University, Faculty of Agriculture, Soils and Water Department, Egypt; ⁸ IDARN - Instituto para o Desenvolvimento Agrário da Região Norte; ⁹ Associação Desenvolvimento da Viticultura Duriense; ¹⁰ IRET-CNR - Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri, Italy; ¹¹ Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina - Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Porto, Portugal.

E-mail de contacto: aanitua@neiker.eus

En un contexto de cambio global, los agroecosistemas mediterráneos, ya debilitados por las prácticas de gestión convencionales (e.g., uso excesivo de fertilizantes y pesticidas químicos, monocultivo), están sometidos a presiones ambientales cada vez mayores (e.g., fenómenos de calor extremo, agotamiento de los recursos hídricos). Para hacer frente a esta crisis, es esencial fomentar prácticas agrícolas que contribuyan a mejorar la biodiversidad del suelo, atributo clave de un sistema agrícola sostenible. ReCROP es un proyecto europeo que incluye socios de Marruecos, Egipto, Túnez, Italia, Francia, Portugal y España, incorporando los principales cultivos de estos países: viñedos, cereales y plantas aromáticas. El proyecto pretende identificar sistemas de producción agrícola sostenibles y resilientes en la región mediterránea mediante el uso bioinóculos, diversas enmiendas y varios sistemas de cultivo. Entre otras tareas, ReCROP evaluará la influencia de estos sistemas de producción sobre la biodiversidad estructural y funcional del suelo a distintos niveles de la cadena trófica. Las comunidades edáficas de procariotas, hongos e invertebrados se están analizando mediante secuenciación de múltiples amplicones y por secuenciación metagenómica.

P55. Análisis de la comunidad bacteriana de semillas de trigo y su capacidad de promoción del crecimiento vegetal.

Irene Sanz-Puente¹, Santiago Redondo^{1,2}, Fernando de la Cruz¹, Marta Robledo^{1,2}

¹Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Universidad de Cantabria–CSIC, Santander, Cantabria.

²Biomar Microbial Technologies, Armunia, León.

E-mail de contacto: sanzpuentei@unican.es

El incremento de la demanda alimentaria a nivel mundial y el cambio climático están obligando a buscar alternativas sostenibles que mejoren la productividad agrícola. Existen bacterias capaces de promover el crecimiento vegetal (*Plant growth promoting*; PGP) ya que mejoran el acceso de la planta a los nutrientes o su tolerancia al estrés. El ejemplo más estudiado es la asociación fijadora de nitrógeno de rizobios con leguminosas. Sin embargo, otros microorganismos asociados a plantas como los endófitos de semillas aún están poco estudiados.

En este trabajo analizamos la comunidad de bacterias endófitas de semillas de *Triticum sp.* y su potencial PGP. Para ello, se llevó a cabo el muestreo de semillas de trigo comercial y ancestral cultivadas bajo diferentes regímenes hídricos. El análisis metataxonómico del gen 16S señala que la estructura de la comunidad bacteriana presente en las semillas se encuentra conservada y dominada predominantemente por *Enterobacterias*. Diversas bacterias endófitas aislados de estas semillas se aislaron para evaluar *in vitro* capacidades PGP como la movilización de fósforo y potasio, producción de sideróforos, ácido indolacético o actividad ACC desaminasa. Algunas cepas seleccionadas se inocularon en *Arabidopsis thaliana* y otras plantas de interés agroalimentaria (*Lolium*, tomate y trigo). Los resultados muestran un incremento significativo en la germinación, desarrollo aéreo, radicular y producción vegetal en presencia de algunos aislados. Por tanto, estos microorganismos endófitos de semilla muestran potencial biotecnológico para mejorar la producción agrícola reduciendo la necesidad del uso de fertilizantes químicos.

P56. Impacto individual y combinado de gradientes de cobre y glifosato en el resistoma del suelo enmendado con estiércol.

Ruiz Torrubia F¹, Anza M¹, Chamekh A^{2, 3}, Brandt K K², Garbisu C¹, Epelde L¹

¹*Departamento de Conservación de Recursos Naturales, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Bizkaia.*

²*Department of Plant and Environmental Sciences, University of Copenhagen, Frederiksberg, Denmark*

³*Laboratory of Plant Toxicology and Environmental Microbiology (LR 18ES38), Faculty of Sciences of Bizerte, University of Carthage, 7021 Zarzouna, Bizerte, Tunisia.*

E-mail de contacto: fruiz@neiker.eus

La emergencia y diseminación de genes de resistencia a antibióticos en suelos agrícolas supone un riesgo para la salud pública, dado que la comida que se produce en ellos puede ser vía directa entre el microbioma del suelo y la comunidad. El uso de enmiendas orgánicas de origen animal representa una importante vía de entrada de genes de resistencia al suelo, y la presencia de fungicidas (e.g., cobre) o herbicidas (e.g., glifosato) pueden alterar los patrones de emergencia y diseminación. Nuestro objetivo es estudiar la influencia de estos biocidas en el riesgo del resistoma en este ecosistema.

Para ello, se estableció un experimento en 64 tarrinas de 300 g de suelo y un 2.5 % de estiércol de vacuno en peso. En estas tarrinas se añadieron gradientes cruzados de cobre en forma de CuSO₄ y glifosato en forma de sal de glifosato isopropilamina al 36%. Después de tres meses los cambios genotípicos en el resistoma se estudiaron cuantificando la abundancia de 7 genes de resistencia a antibióticos y 2 genes asociados a elementos genéticos móviles mediante droplet-digital PCR. Los cambios fenotípicos se analizaron determinando la concentración mínima inhibitoria de las poblaciones bacterianas frente a tetraciclina. Paralelamente, se utilizó un método basado en la incorporación de leucina para determinar la tolerancia frente a tetraciclina inducida por los tratamientos en la comunidad bacteriana. Observamos incrementos en el resistoma como consecuencia de la adición de cobre y glifosato, sobre todo en concentraciones elevadas y en presencia de ambos compuestos. Es necesario implementar una gestión adecuada de enmiendas orgánicas, así como del uso de biocidas, para controlar el riesgo de resistencia a antibióticos en los agroecosistemas.

P57. El efecto sinérgico de dos mutaciones en una cianobacteria evolucionada experimentalmente genera un chasis autotófico con tiempo de generación reducido

Alfonso Mendaña¹, **Marina Domínguez-Quintero¹**, María Santos-Merino¹, Raquel Gutiérrez-Lanza¹, Ana González-Guerra¹, Víctor Campa¹, Didier Mazel², Fernando de la Cruz¹, Raúl Fernández-López¹

¹Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTec) Universidad de Cantabria. Santander, Cantabria.

²Unité Plasticité du Génome Bactérien. Institut Pasteur. Paris. France.

E-mail de contacto: marina.dominguez@unican.es

Synechococcus elongatus PCC7942 (*Syne1* 7942) es una cianobacteria considerada buena candidata para la generación de un chasis fotoautótrofo para aplicaciones de biología sintética. Sin embargo, uno de los principales inconvenientes para su uso es su largo tiempo de generación. Con el objetivo de mejorar su tasa de crecimiento, se realizó un experimento de evolución en una atmósfera de 5% de CO₂ y luz continua de alta intensidad y, tras 1000 generaciones, se obtuvo una cepa evolucionada (C11) con un tiempo de generación 6 veces inferior al de la cepa WT. La introducción de dos de las cuatro mutaciones fijadas en la población en la cepa WT es suficiente para recrear el fenotipo de crecimiento rápido. La primera de esas mutaciones se produce en una región no codificante, mientras que la segunda afecta a *sasA*, una proteína central en la vía de transducción del reloj circadiano. El impacto de esta mutación en el ritmo circadiano de *Syne1* 7942 se estudió siguiendo la expresión de una proteína fluorescente amarilla (YFP) bajo el control de un promotor circadiano. Mediante microscopía de fluorescencia se demostró que *sasA** elimina la periodicidad de la expresión de la YFP. C11 también muestra crecimiento deteriorado en condiciones de luz/oscuridad, indicando que *sasA** detiene la célula en una fase diurna permanente. La segunda mutación parece estar actuando sinérgicamente con la primera para aumentar el crecimiento de C11, adaptando *Syne1* 7942 a un crecimiento óptimo en luz alta y constituyendo así un chasis fotoautótrofo mejorado para aplicaciones de biología sintética.

P58. Inhibición selectiva de la actividad lipasa por una mini-proteína altamente conservada en el género *Staphylococcus*

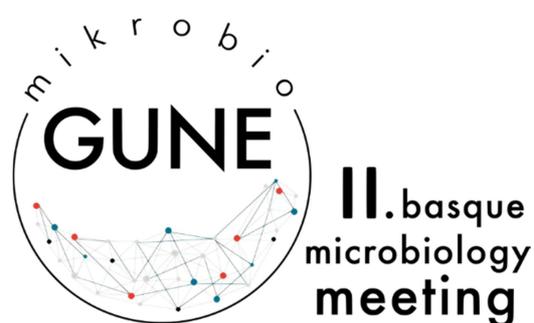
Ane Muruzabal-Galarza, Arancha Catalán-Moreno, Pedro Dorado-Morales y Alejandro Toledo-Arana

Laboratorio de Regulación Génica Bacteriana, Instituto de Agrobiotecnología, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IdAB-CSIC), Mutilva (Navarra).
E-mail de contacto: ane.muruzabal@csic.es

Recientemente, se ha descubierto la existencia de mini-proteínas menores a 50-100 aminoácidos (smORFs) implicadas en procesos bacterianos fundamentales. Sin embargo, éstas no se encuentran correctamente anotadas en las bases de datos. Utilizando proteómica de alta-resolución y RIBO-seq, nuestro grupo está estudiando el proteoma oculto de *Staphylococcus aureus*, una bacteria patógena Gram-positiva causante de una gran variedad de infecciones.

Entre los factores de virulencia que secreta este organismo se encuentran SAL1 y SAL2, dos lipasas que hidrolizan ácidos grasos. Nuestro análisis de RIBO-seq identificó la presencia de dos smORFs en el mRNA de SAL1, de 21 aa y conservadas en el género *Staphylococcus*.

En este estudio describimos la smORF localizada en la región 5' (5'Lip). Primero, validamos su expresión y posteriormente evaluamos su función sobre-expresándola. Así, se observó que 5'Lip inhibía la actividad lipasa en sobrenadantes de *S. aureus*. Mediante la combinación de mutantes en *sal1* y *sal2* se determinó que 5'Lip inhibía exclusivamente la actividad de SAL2. Estudios de fraccionamiento subcelular sugirieron que 5'Lip interactuaría con SAL2, bloqueando su paso a través de la membrana y priorizando así la actividad de SAL1. En conclusión, este trabajo pone de manifiesto la relevancia de ciertas mini-proteínas (actualmente ocultas) para la biología de *S. aureus*.



MikrobioGUNE
II Basque Microbiology Meeting
Bizkaia Aretoa UPV/EHU, Bilbao
13 de diciembre de 2022

