



Facultad de Ciencia y Tecnología  
Zientzia eta Teknologia Fakultatea  
UPV/EHU (Bizkaia) – Paraninfo –  
2024 ko Abenduaren 10ean  
10 de Diciembre de 2024



## Antolatzaileak / Organizadores



MEMBER OF  
BASQUE RESEARCH  
& TECHNOLOGY ALLIANCE



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

ZIENTZIA  
ETA TEKNOLOGIA  
FAKULTATEA  
FACULTAD  
DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA

## Laguntzailea / Con el apoyo de



EUSKO JAURLARITZA  
GOBIERNO VASCO

HEZKUNTZA SAILA  
DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN

**Babesleak / Patrocinadores**



***microorganisms***

an Open Access Journal by MDPI

### **Batzorde antolatzailea / Comité organizador**

#### **UPV/EHU**

**Grupo de Microbiología, Medioambiente y Salud (MIMAS)  
Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología**

Iñigo Azua

Maite Orruño

Zuriñe Baña

#### **AZTI**

**Grupo de Bacteriófagos**

**Área de Calidad, Seguridad e Identidad Alimentaria**

Amaia Lasagabaster

María Lavilla

Meritxel González Intxausti

### **Batzorde Zientifikoa / Comité organizador**

Aitor Rementería – UPV/EHU

Amaia Lasagabaster – AZTI

Anders Lanzen – AZTI

Ane del Río – AZTI

Carla Pérez-Cruz – AZTI

Inés Arana – UPV/EHU

Itxaso Artolozaga – UPV/EHU

María Lavilla – AZTI

Raquel Liebana – AZTI

Zuriñe Baña – UPV/EHU

Aitziber Antorán – UPV/EHU

Ana Abad – UPV/EHU

Andoni Ramirez – UPV/EHU

Begoña Ayo – UPV/EHU

Elisa Jiménez – AZTI

Iñigo Azua – UPV/EHU

Maite Orruño – UPV/EHU

Miguel Ángel Pardo – AZTI

Vladimir Kaberdin – UPV/EHU

**GONBIDATUTAKO HIZLARIAK**  
**PONENTES INVITADOS**

## BRUNO GONZÁLEZ-ZÖRN

Universidad Complutense de Madrid



Es Catedrático y director de la Unidad de Resistencia a los Antibióticos de la Universidad Complutense de Madrid. Es también Doctor honoris causa por la University for Development Studies en Ghana, miembro del Comité Nacional del Antibiograma (COESANT) y del Plan Nacional de Lucha contra la Resistencia a los Antibióticos (PRAN).

Sus intereses de investigación se centran en el papel de la ecología de la resistencia a los antimicrobianos, incluyendo humanos, animales, alimentos y medio ambiente, centrandó su investigación en la genómica desde una perspectiva de Una Salud. Es autor y coautor

de numerosas publicaciones de alto impacto, centradas en la resistencia a los antimicrobianos y el papel de los pequeños plásmidos en la aptitud bacteriana. Este trabajo ha tenido un impacto significativo en la comprensión global de las enfermedades zoonóticas y en el desarrollo de estrategias para combatir la resistencia a los antimicrobianos (AMR) y ha influido en las políticas y prácticas de la medicina veterinaria y humana.

Tanto es así que, que ejerce como asesor dentro del Grupo One Health CIA (Antibióticos Críticamente Importantes para la salud humana) de la OMS, como parte de un grupo de 15 expertos a nivel mundial y, más recientemente, fue elegido presidente de One Health en la Alianza Europea Una Europa, que promueve un enfoque holístico para abordar los problemas de salud global.



## DOLORS VAQUÉ VIDAL

Institut de Ciències del Mar, ICM-CSIC



Doctora en Ciencias Biológicas (1989) e Investigadora Científica en el ICM-CSIC desde 2007. Realizó su Postdoctorado en el Institute of Ecosystem Studies, NY, USA investigando el papel de los protistas en la red trófica microbiana. En 1991 se incorporó al grupo de ecología microbiana marina del ICM-CSIC. De 2006 a 2009 fue Directora del Dpto. de Biología Marina y Oceanografía, y de 2010 a 2018 Directora de la revista internacional *Scientia Marina*.

El principal objetivo de su carrera científica es identificar los microorganismos y virus marinos, cuantificar su biomasa y actividad, la interacción

entre ellos y con factores fisicoquímicos, y el papel que juegan en el Cambio Global. En los últimos 20 años investiga el papel de los virus en la red trófica microbiana y su diversidad en diferentes sistemas marinos. Desde hace 10 años se centra en el desarrollo de técnicas (FISH y SAGs) para detectar interacciones virus-huésped en modelos cultivados y no cultivados. A su vez, investiga el papel de la actividad y diversidad viral en la formación de aerosoles que contribuyan a la formación de nubes, que intervienen en la refrigeración del Planeta. Desde 1986 ha participado en 26 campañas Oceanográficas (7 Antárticas, 7 en el Mar Mediterráneo, 8 en el Océano Atlántico, 1 en el Mar del Norte y 2 en el Ártico) y 2 estancias en la Base Antártica Española (BAE) y 2 estancias en el Ártico (Svalbard, UNIS).

Ha sido reconocida por Research.com con la distinción de líder en ecología y evolución 2024. Es delegada de Ciencias de la Vida del Comité Científico para la Investigación Antártica (SCAR), miembro fundador del SIBECOL y Vocal del Comité de Cultura Científica del ICM. En 2019 fue nombrada Miembro Numerario del Institut d'Estudis Catalans (IEC) formando parte también de la Comisión de Igualdad de Género de dicha Institución.

## IGNACIO LÓPEZ-GOÑI

Universidad de Navarra



Doctor en Biología. Catedrático de Microbiología. Director del Museo de Ciencias de la Universidad de Navarra. Su investigación se ha centrado en el estudio de la virulencia bacteriana y el desarrollo de nuevas vacunas.

Miembro de la Sociedad Americana de Microbiología (ASM), de la Asociación Española de Comunicación Científica, y presidente del grupo de Docencia y Difusión de la Sociedad Española de Microbiología (SEM).

Autor del blog “microBIO” considerado como uno de los 25 mejores blogs en Virología del mundo. Ha publicado varios libros de divulgación científica: “¿Funcionan las vacunas?” (Premio Prismas 2018), “Microbiota, los microbios de tu organismo”, “Virus y pandemias”, “Preparados para la próxima pandemia: reflexiones desde la ciencia”, y recientemente “Salud Global: la nueva estrategia frente a la amenaza medioambiental”. Ha escrito junto con su hija el libro “Princesas de cristal”, sobre el problema de la anorexia juvenil.

En 2021 recibió el Premio de Divulgación Científica Fundación Lilly, el Premio COSCE a la Difusión de la Ciencia (de la Confederación de Sociedades Científicas de España), y el Premio CSIC-Fundación BBVA de Comunicación Científica. En 2023 ha recibido el Premio Comunicación de la Ciencia en Español de la Fundación Madrid.



# **EGITARAU PROGRAMA**

**08:30 – 09:00 Izen-ematea eta akreditazioa – Registro y acreditación**

**09:00 – 09:45 Sesión 1 Saioa**

**Elikagaien Mikrobiologia - Microbiología Alimentaria**

**Transferencia de resistencias antimicrobianas a través de la cadena agroalimentaria.**

**Bruno González-Zörn. Universidad Complutense de Madrid**

**9:45 – 10:00 Inaugurazioa eta ongietorria - Inauguración y bienvenida**

**10:00 – 11:00 Elikagaien Mikrobiologia. Ahozko komunikazioak**

**Comunicaciones orales Microbiología Alimentaria**

10:00 Análisis Molecular de un Desafío Global: *Magnaporthe oryzae*, la amenaza de los cereales.  
*Miriam Osés Ruiz*

10:12 El pangenoma de *Salmonella entérica* serotipo Hadar: estructura poblacional y dinámica de un patógeno zoonótico. *Arancha Peñil Celis*

10:24 Capacidad bioestimulante y protectora del alga *Rugulopteryx okamurae*: hacía una viticultura más sostenible. *Asier Cámara Ramos*

10:36 Bacterias con genomas reducidos se asocian positivamente con el peso corporal de los pollos. *Sofía Marcos*

10:48 Estudio cinético de la transcripción de una cepa enológica de *Saccharomyces cerevisiae* durante las primeras horas de fermentación. *Miguel Mejías Ortiz*

**11:00 – 11:30 Kafe atsedenaldia eta Poster Saioa - Café y Sesión de posters**

**11:30 – 12:15 Sesión 2 Saioa. Ingurumen-Mikrobiologia - Microbiología Ambiental**

**Virus marinos: invisibles, abundantes, diversos y esenciales en el océano**

**Dolors Vaqué Vidal. Institut de Ciències del Mar, ICM-CSIC**

**12:15 – 13:30 Ingurumen-mikrobiologia. Ahozko komunikazioak**

**Comunicaciones orales Microbiología Ambiental**

12:15 La asimilación y oxidación de la urea como motor de la actividad microbiana en las profundidades del océano. *Nestor Arandia Gorostidi*

12:27 Redes gen-gen en comunidades microbianas estuarinas mediante metagenómica: congruencia ecológica e identificación de impactos ambientales. *Ion Luis Abad Recio*

12:39 Caracterización y variación temporal de la microbiota intestinal de la abeja silvestre *Bombus pascuorum* en el Parque Natural de Gorbea. *Luis Javier Chueca Simón*

12:51 Los ecosistemas marinos tienen un reservorio plasmídico escaso. *Juan Manuel Medina Méndez*

13:03 Papel de la agregación celular en la degradación del polisacárido complejo fucoídano por *Planctomycetes* marinas. *Uxue Arrizabalaga Luzuriaga*

13:15 Plastisfera de distintos tipos de plásticos en aguas superficiales del puerto de Santurtzi. *Helene Mendizabal Goñi*

**13:30 – 15:00 Bazkaria - Comida**

**15:00 – 15:45 Sesión 3 Saioa.**

**Oinarrizko Mikrobiologia eta Mikrobiologia Biomedikoa  
Microbiología Básica y Biomédica**

**Salud Global: la nueva estrategia frente a la amenaza medioambiental**

**Ignacio López-Goñi. Universidad de Navarra**

**15:45 – 16:30 Oinarrizko Mikrobiologia eta Mikrobiologia Biomedikoa. Ahozko komunikazioak  
Comunicaciones orales Microbiología Básica y Biomédica**

15:45 Protección e interferencia diagnóstica inducida por prototipos de vacunas inactivadas por calor, inactivadas por fagos y vivas contra la tuberculosis animal. *Leire Fernández Veiga*

15:57 Silenciamiento y activación de un Sistema de Secreción Tipo VI codificado en un plásmido conjugativo. *María del Mar Quiñonero Coronel*

16:09 Los organoides intestinales derivados de pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal reproducen la enfermedad y son clave para estudiar las interacciones microbiota-hospedador. *Ainize Peña Cearra*

16:21 Avances en el inmunodiagnóstico de *Scedosporium/Lomentospora* en pacientes con fibrosis quística. *Lucía Abio Dorronsoro*

**16:35 – 17:00 Kafe atsedenaldea eta Poster Saioa - Café y Sesión de posters**

**15:45 – 16:30 Oinarrizko Mikrobiologia eta Mikrobiologia Biomedikoa. Ahozko komunikazioak  
Comunicaciones orales Microbiología Básica y Biomédica**

17:00 ¿Tras la crisis de la COVID-19, aumentan los patógenos pediátricos? El caso de parvovirus B19. *Mikel Gallego Rodrigo*

17:12 Estudio del papel del inmunometabolismo y la memoria inmune innata en la lucha contra infecciones fúngicas en mucosas. *Aize Pellón Rodríguez*

17:24 Degradación de magnetosomas de *Magnetospirillum gryphiswaldense* en un modelo de carcinoma pulmonar a nivel intracelular. *Alicia Gascón Fernandez Gubieda*

17:36 Alternativas probióticas para combatir las infecciones producidas por *Candida*. *Katherine Miranda Cadena*

**17:50 – 18:00 Ahozko komunikazio onenaren eta poster onenaren sari banaketa.**

**Entrega de premios a mejor comunicación oral y mejor poster.**

**Konklusioak eta agurra - Conclusiones y despedida**

## **SESIÓN 1 SAIOA**

# **Elikagaien Mikrobiologia Microbiología Alimentaria**

**Moderatzaileak / Moderadores**

María Lavilla (AZTI)

Miguel Ángel Pardo (AZTI)

## **Transferencia de resistencias antimicrobianas a través de la cadena agroalimentaria**

Bruno Gonzalez-Zorn

*Antimicrobial Resistance Unit (ARU), Universidad Complutense de Madrid*

El fenómeno de la resistencia a los antimicrobianos (RAM) representa una de las mayores amenazas para la salud pública, con profundas implicaciones en la producción alimentaria y la seguridad sanitaria. Aquí vamos a explorar cómo la cadena agroalimentaria actúa como un vector clave en la transferencia de resistencias antimicrobianas entre humanos, animales y el medio ambiente, en el marco del enfoque One Health.

El uso de antimicrobianos y antifúngicos, junto al incremento de la población mundial, favorecen la selección y diseminación de bacterias y hongos resistentes. Estos microorganismos pueden transferirse a los seres humanos a través del contacto directo con animales, el consumo de alimentos contaminados o el medio ambiente, incluyendo el agua y los suelos. Además, el comercio global de productos alimentarios amplifica el alcance geográfico de esta problemática.

A través de un enfoque interdisciplinar, se analizan las principales vías de transferencia, desde las explotaciones agrícolas hasta la mesa del consumidor, y se proponen estrategias para mitigar esta amenaza. Entre estas destacan la reducción del uso de antimicrobianos en animales de producción, la implementación de medidas de bioseguridad en granjas y mataderos, y el fortalecimiento de la vigilancia de la RAM en la cadena agroalimentaria. El desarrollo de las técnicas genómicas, en alianza con la inteligencia artificial, no están permitiendo desarrollar herramientas de detección y predicción únicas.

La colaboración entre sectores público, privado y académico es esencial para abordar este desafío. Este trabajo subraya la necesidad de políticas integradas, basadas en la ciencia, que promuevan prácticas sostenibles en la producción agroalimentaria y protejan la eficacia de los antimicrobianos esenciales para la medicina humana y veterinaria.

Este enfoque One Health enfatiza que la lucha contra la resistencia a los antimicrobianos no puede limitarse a un solo sector, sino que requiere un esfuerzo conjunto para salvaguardar la salud global, garantizando al mismo tiempo la seguridad alimentaria y la sostenibilidad ambiental.

## O1. Análisis Molecular de un Desafío Global: *Magnaporthe oryzae*, la amenaza de los cereales

Oses-Ruiz Miriam

<sup>1</sup> Universidad Pública de Navarra UPNA, Campus Arrosadia, Pamplona, Navarra 31006, España

La situación actual sostiene que para el año 2050, la población mundial ascenderá a 9 billones de personas y, por tanto, la demanda de alimentos aumentará al menos 3 veces. Existen diversos factores que ponen en riesgo la seguridad alimentaria mundial, entre los que se encuentran los bióticos que incluyen hongos patógenos. Los patógenos vegetales destruyen miles de toneladas de alimentos al año y causan más de un 30% de las pérdidas en cultivos. Uno de los patógenos más importantes y destructivos es el hongo *Magnaporthe oryzae*, causante de la enfermedad *Blast Disease* o quemazón del arroz. Este hongo causa tremendas pérdidas en la producción global de alimentos de primera necesidad como son los cereales, incluyendo el arroz, y destruyendo anualmente suficiente arroz como para alimentar a 60 millones de personas en el mundo. Existe limitada disponibilidad de fungicidas y medidas de control contra la enfermedad, y que, además, representan una amenaza para el bienestar de los ecosistemas y para la salud humana.

Para la infección *M. oryzae* produce esporas tricelulares provenientes de las lesiones existentes en la planta. Las esporas se dispersan hasta aterrizar en nuevas hojas, donde germinan. El tubo germinativo crece isotrópicamente formando una nueva célula con forma de bóveda llamada apresorio. El apresorio es la célula especializada del hongo cuya función es infectar. El apresorio durante su maduración acumula melanina, que le permite a su vez generar presión interna de turgencia a través de la acumulación de agua externa. La presión interna se traslada en fuerza mecánica contra la superficie de la hoja, permitiendo la ruptura de la cutícula y la colonización de la hoja de la planta. La formación del apresorio es un requisito fundamental para la infección ya que la interrupción de su formación ya sea vía química o genética, previene la infección y por tanto la enfermedad.

Se ha visto que la formación del apresorio conlleva un cambio de la expresión génica de 6000 genes, correspondiente al 40% del genoma. Estos cambios de expresión están controlados por cascadas de señalización y varios factores de transcripción que actúan como reguladores *master* de la morfogénesis. Además, la formación del apresorio está acoplada al ciclo celular de la mitosis. Durante la formación del apresorio, el núcleo de la célula apical de la espора se divide por mitosis dando lugar a dos núcleos resultantes que migran uno hacia la espора y otro hacia el apresorio. Sorprendentemente a su vez, los dos núcleos restantes sufren un proceso de autofagia, ocurriendo dos procesos antagonistas simultáneos a la vez dentro de la misma espора.

En el laboratorio a través de aproximaciones multidisciplinares de técnicas -ómicas, biología celular, genética y bioquímica, pretendemos entender a nivel molecular como ocurre la formación del apresorio y como el hongo orchestra las cascadas de señalización que dan lugar a la morfogénesis. Nuestro objetivo principal es identificar **nuevos genes diana y mecanismos de acción, que permitan el diseño de fungicidas y soluciones alternativas para prevenir la enfermedad de una manera ecológica.**



## O2. El pangenoma de *Salmonella enterica* serotipo Hadar: estructura poblacional y dinámica de un patógeno zoonótico

Arancha Peñil-Celis<sup>1</sup>, Santiago Redondo-Salvo<sup>1</sup>, M. Pilar Garcillan-Barcia<sup>1</sup>, Fernando de la Cruz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Universidad de Cantabria, Santander, España

Los sistemas de vigilancia genómica de salud pública tradicionalmente se centran en el estudio de loci cromosómicos comunes para inferir relaciones epidemiológicas moleculares entre las bacterias. Estos sistemas se basan en la evolución vertical y excluyen la evolución horizontal, reflejada en el genoma accesorio. Los plásmidos y otros elementos genéticos móviles que comprenden el genoma accesorio desempeñan un papel crucial en la evolución bacteriana a través de la transferencia horizontal de genes, facilitando una rápida adaptación en respuesta a las presiones de selección ambiental.

Empleando el Índice de Jaccard para calcular la relación del pangenoma, exploramos la estructura poblacional y la epidemiología de *Salmonella enterica* serotipo Hadar (Hadar), un patógeno zoonótico emergente en los Estados Unidos vinculado tanto a las aves comerciales como a las domésticas de corral. Las poblaciones de Hadar en EE.UU. han experimentado cambios genéticos sustanciales entre 2019 y 2020, pasando de encontrarse linajes diferenciados según la fuente a la expansión de un linaje común portador de un profago previamente poco frecuente y no caracterizado. Al estudiar la dinámica vertical y horizontal de este serotipo en EE.UU., ofrecemos apoyo para el uso de datos pangenómicos en análisis de salud pública y en el contexto de “Una Sola Salud”.

**Financiación:** Trabajo financiado por el Proyecto PID2020-117923GB-I00 del Ministerio de Ciencia e Innovación-Agencia Estatal de Investigación /10.13039/501100011033 y por el proyecto 200-2019-06679 de Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE.UU..

### O3. Capacidad bioestimulante y protectora del alga *Rugulopteryx okamurae*: hacía una viticultura más sostenible

Asier Cámara<sup>1</sup>, Juan José Córdoba-Granados<sup>2</sup>, Usue Pérez-López<sup>3</sup>, Enrico Cretazzo<sup>2</sup>, Amaia Mena-Petite<sup>4</sup>, Maite Lacuesta<sup>4</sup>, Ana Diez-Navajas<sup>5</sup>, Eva P. Pérez-Álvarez<sup>6</sup>, Andone Estonba<sup>1</sup>, Emma Cantos-Villar<sup>2</sup>, Iratxe Zarraonaindia<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Leioa (Bizkaia), España. [asier.camara@ehu.eus](mailto:asier.camara@ehu.eus), [andone.estonba@ehu.eus](mailto:andone.estonba@ehu.eus), [iratxe.zarraonaindia@ehu.eus](mailto:iratxe.zarraonaindia@ehu.eus)

<sup>2</sup>Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) Rancho de la Merced, Consejería de Agricultura, Pesca, Agua y Desarrollo Rural, Junta de Andalucía, Jerez de la Frontera, España. [juanj.cordoba@juntadeandalucia.es](mailto:juanj.cordoba@juntadeandalucia.es), [emma.cantos@juntadeandalucia.es](mailto:emma.cantos@juntadeandalucia.es)

<sup>3</sup>Departamento de Biología y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco, (UPV/EHU), Leioa (Bizkaia), España. [usue.perez@ehu.eus](mailto:usue.perez@ehu.eus)

<sup>4</sup>Departamento de Biología y Ecología Vegetal, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz (Araba), España. [amaia.mena@ehu.eus](mailto:amaia.mena@ehu.eus), [maite.lacuesta@ehu.eus](mailto:maite.lacuesta@ehu.eus)

<sup>5</sup>Neiker, Departamento de Producción y Protección Vegetal, Campus Agroalimentario de Arkaute - E-01080 Vitoria-Gasteiz, España. [adiez@neiker.eus](mailto:adiez@neiker.eus)

<sup>6</sup>Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (Gobierno de La Rioja, CSIC, Universidad de La Rioja). Carretera de Burgos, Logroño, España. [evapipeal@msn.com](mailto:evapipeal@msn.com)

<sup>7</sup>Ikerbasque, Fundación Vasca para la Ciencia, Bilbao, España. [iratxe.zarraonaindia@ehu.eus](mailto:iratxe.zarraonaindia@ehu.eus)

La mayoría de los cultivares de vid son susceptibles a enfermedades fúngicas, lo que hace necesario recurrir regularmente al uso de pesticidas. Sin embargo, la UE está impulsando la reducción de estos compuestos debido a su considerable impacto ambiental. Esto ha generado una creciente demanda de productos más ecológicos, eficaces y sostenibles. Estudios recientes indican que los productos derivados de algas pueden reducir la presencia de fitopatógenos en la agricultura. En el marco del proyecto SEAWINES (MINECOR 2021-2025) evaluamos la eficacia de *Rugulopteryx okamurae*, una especie invasora en el Mediterráneo y Atlántico que ha causado graves daños ambientales y económicos. Nuestro objetivo es desarrollar un bioestimulante y agente protector innovador, que responda a las necesidades actuales de la viticultura para combatir las enfermedades fúngicas. Hemos realizado una serie de ensayos en invernadero, campo y bodega, investigando el impacto del alga en diversos aspectos como: 1) la expresión de genes de resistencia, 2) enzimas antioxidantes y polifenoles, 3) la incidencia y severidad de enfermedades como el mildiu y oídio, 4) la comunidad microbiana (fúngica y bacteriana) asociada a la vid, y 5) la calidad de la uva y del vino y su microbiología. Entre los resultados obtenidos, se ha observado que la aplicación foliar del extracto en invernadero induce la expresión de genes de defensa y de enzimas del complejo antioxidante. Provoca cambios en la diversidad y composición de la comunidad fúngica en hojas y suelo, promoviendo perfiles más protectores al enriquecer grupos beneficiosos y reducir la presencia de posibles patógenos. A su vez, es efectivo para disminuir la severidad del mildiu. En conjunto, estos hallazgos destacan el potencial de *R.okamurae* para una viticultura sostenible, y ofrecemos a su vez una salida a su acumulación en nuestras costas, promoviendo así la bioeconomía circular.

## 04. Bacterias con genomas reducidos se asocian positivamente con el peso corporal de los pollos

Sofía Marcos<sup>1,2</sup>, Iñaki Odriozola<sup>2</sup>, Ostaizka Aizpurua<sup>2</sup>, Raphael Eisenhofer<sup>2</sup>, Sarah Siu Tze Mak<sup>2</sup>, Garazi Martin<sup>2</sup>, Varsha Kale<sup>3</sup>, Germana Baldi<sup>3</sup>, Robert D Finn<sup>3</sup>, Joan Tarradas<sup>4</sup>, Andone Estonba<sup>1</sup>, M Thomas P Gilbert<sup>2,5</sup>, Antton Alberdi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad del País Vasco, Grupo de Genómica aplicada y bioinformática. Leioa, Bilbao.

<sup>2</sup> Centro de Hologenómica evolutiva, Instituto Globe, Universidad de Copenhague. Copenhague, Dinamarca.

<sup>3</sup> Laboratorio Europeo de Biología Molecular, Instituto Europeo de Bioinformática (EMBL-EBI), Campus del Genoma Wellcome, Hinxton, Cambridge, Reino Unido.

<sup>4</sup> Nutrición Animal, Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias (IRTA), Constantí, España.

<sup>5</sup> Museo Universitario, NTNU, Trondheim, Noruega.

Optimizar la producción de ganado es clave para aliviar la actual crisis de sostenibilidad. Una de las estrategias posibles para asegurar el bienestar animal y aumentar la productividad es potenciar la microbiota intestinal, ya que participa en el metabolismo de nutrientes y en el refuerzo del sistema inmune. Pero a pesar de que los suplementos microbianos son una alternativa prometedora a los antibióticos, su eficacia varía debido a la complejidad de las comunidades microbianas presentes en el aparato gastrointestinal de los huéspedes. Por lo tanto, es primordial entender el desarrollo temporal de estas comunidades durante la vida temprana de los animales, así como su relación con el peso y salud del huésped. En este trabajo hemos analizado el microbioma cecal de 388 pollos para carne pertenecientes a dos experimentos idénticos en los días 7, 21 y 35 post-eclosión. Para explorar las características funcionales de las bacterias y de la comunidad microbiana, se han estudiado 170 rasgos metabólicos relevantes para las interacciones huésped-microbiota.

Los resultados muestran que el microbioma presenta un perfil funcional complejo y filogenéticamente estructurado. A medida que los pollos crecen, los individuos muestran una sucesión temporal similar. Las pocas bacterias que disminuyen con el tiempo pertenecen al grupo Lachnospirales, *Phylum* Bacillota A, que se caracterizan por tener la mayor capacidad funcional de la comunidad bacteriana; mientras que la mayoría de las bacterias aumentan en abundancia. Estos cambios mencionados no se dan al mismo ritmo en todos los individuos. Aquellos con menor diversidad bacteriana a día 35, presentan un peso final mayor que el resto. Identificamos solo 10 bacterias del grupo RF39 *Phylum* Bacillota de las 825 bacterias analizadas, que se asocian positivamente con el peso del pollo. Estas están produciendo ácidos grasos de cadena corta y degradando polisacáridos, dos funciones beneficiosas para el huésped. Los hallazgos descritos proporcionan más detalle sobre las dinámicas funcionales de la microbiota y las interacciones huésped-microbiota en el contexto de producción intensiva.

## **O5. Estudio cinético de la transcripción de una cepa enológica de *Saccharomyces cerevisiae* durante las primeras horas de fermentación**

Miguel Mejías-Ortiz, Ana Perea-Martínez, Virgile Rose, Pilar Morales, Ramón Gonzalez

*Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC, Universidad de La Rioja, Gobierno de La Rioja),  
Finca La Grajera, 26007 Logroño (La Rioja). miguel.mejias@icvv.es*

Para la producción de vinos secos, es necesario que se consuman todos los azúcares presentes en el mosto de uva durante la fermentación, convirtiéndolos mayoritariamente en etanol y dióxido de carbono. Para llevar a cabo este proceso, se utiliza principalmente la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que es capaz de imponerse al resto de la microbiota en condiciones anaeróbicas en un medio con una alta presión osmótica y un bajo pH, como es el mosto de uva. Al inicio de la fermentación, la levadura se inocula en el medio desde un preinóculo en estado estacionario o rehidratada desde biomasa liofilizada. Al entrar en contacto con el medio, pasará por una fase de latencia, seguida de una fase de crecimiento exponencial hasta llegar a un estado estacionario cuando consuma los recursos limitantes que le impidan seguir duplicándose. En el caso del mosto, se trata del nitrógeno; aunque la fermentación sigue desarrollándose hasta el consumo total del azúcar por parte de células no proliferantes de *S. cerevisiae*.

Se han realizado diversos estudios sobre el transcriptoma de *S. cerevisiae* durante la fermentación. Sin embargo, no se han publicado resultados sobre los cambios transcriptómicos anteriores a las 24 horas de proceso. Para completar esa información, en este estudio se ha observado una cinética transcriptómica de cultivos de *S. cerevisiae* que se encontraban en fase estacionaria y que fueron inoculados en mosto sintético. Tras la inoculación, se estudiaron las primeras seis horas de fermentación tomando muestras a los 30, 60, 122, 180, 240 y 360 minutos. Para estudiar las variaciones en el RNA mensajero, se ha realizado un análisis RNA-Seq de los tiempos mencionados por triplicado y se han estudiado los genes diferencialmente expresados. Una vez identificados, mediante el paquete de software maSigPro se han identificado los clusters de genes que siguen una variación similar a lo largo del tiempo.

Los clusters identificados muestran diversos comportamientos a lo largo del tiempo, con un número de genes implicados que varía entre 89 y 411 genes. Dentro del intervalo temporal estudiado, se observan grupos de genes que inicialmente estaban altamente expresados y se reprimen inmediatamente, relacionados con el metabolismo de distintas fuentes de carbono y con la meiosis. También se observan genes inicialmente poco activos, que muestran un importante incremento en la abundancia de su mensajero a lo largo del periodo de tiempo estudiado. Muchos de estos genes están relacionados con la síntesis de glicolípidos y con el ciclo celular.

Este trabajo ha sido financiado por el Gobierno de España a través del proyecto PID2022-136815OB-I00 y la ayuda PRE2020-093420 (contrato de MMO) financiados por MCIN/AEI /10.13039/501100011033; y por una MSCA Doctoral Network de la UE (contrato de VR).

## **SESIÓN 2 SAIOA**

# **Ingurumen-Mikrobiologia Microbiología Ambiental**

**Moderatzaileak / Moderadores**

Iñigo Azua (UPV/EHU)

Leire Garate (AZTI)

## Virus marinos: invisibles, abundantes, diversos y esenciales en el océano

Dolors Vaqué

*Institut de Ciències del Mar (CSIC). Passeig Marítim de la Barceloneta, 37-49, 08003-Barcelona, Catalunya. [dolors@icm.csic.es](mailto:dolors@icm.csic.es)*

El conocimiento de la importancia que tienen los virus en el océano se remonta a tres décadas y es en los últimos 20 años que, gracias al avance de las técnicas de secuenciación masiva, empezamos a saber quiénes son y a quien infectan. Los virus son las entidades biológicas más abundantes que existen en el océano con tamaños que oscilan entre 20 y 500 nm. En un mililitro encontramos 10 millones y en todo el océano  $10^{30}$  virus. Infectan a todos los seres vivos, desde ballenas hasta procariontes (bacterias y arqueas). Siendo estos últimos muy abundantes (1 millón por mililitro) son sus huéspedes más comunes. Por tanto, la mayor proporción de virus en el mar son bacteriófagos, de doble cadena de ADN, aunque también los hay de cadena sencilla de ADN y de ARN. Cuando lisan sus huéspedes, hacen que el contenido celular, rico en materia orgánica, oligoelementos, etc., pase a la columna de agua, el cual es aprovechado por otras bacterias y/o microorganismos fotosintéticos para crecer. Así, los virus tienen un papel crucial en el control de la abundancia y la diversidad de las comunidades microbianas, jugando un papel relevante en las redes tróficas y en los ciclos biogeoquímicos del océano. Sin embargo, no todos los virus son líticos; hay algunos que, al infectar al huésped, integran su material genético en el ADN del huésped: el profago. A estos virus se les llama lisogénicos. La célula portadora del profago es el lisógeno y puede transmitirlo a muchas generaciones, haciendo que su constitución genética cambie. De esta manera, los virus pueden introducir genes beneficiosos para reforzar una determinada función del huésped. No obstante, este profago, debido a cambios ambientales, puede revertir al ciclo lítico. Los diferentes tipos de infección (lítica y lisogénica) hacen que los virus marinos sean el mayor reservorio de diversidad genética, distribuyendo genes, ya sea robándolos y/o transfiriéndolos a sus huéspedes. Aparte de los bacteriófagos, merecen especial atención los virus que infectan a protistas, los cuales aún son muy desconocidos, solo 1% están anotados en bases de datos. La mayoría fueron aislados e identificados a partir del año 2000, se les denomina virus “gigantes” y son virus nucleocitoplasmáticos de doble cadena de ADN (NCLDV: NucleoCytoplasmic Large DNA Virus) con tamaños superiores a los 200 nm. Muchos de ellos llevan asociados virus más pequeños denominados Sputnik y Mavirus, que influyen tanto en la replicación del virus gigante como en modular la estructura de la comunidad del huésped y en los ciclos biogeoquímicos. Por tanto, la contribución de los virus marinos, estos “seres” invisibles, abundantes y diversos, es clave para el mantenimiento de los ecosistemas oceánicos y hacer posible la vida del Planeta.



## 06. La asimilación y oxidación de la urea como motor de la actividad microbiana en las profundidades del océano

Nestor Arandia-Gorostidi<sup>1,2</sup>, Alexander L. Jaffe<sup>1</sup>, Alma E. Parada<sup>1</sup>, Bennett J. Kapili<sup>1</sup>, Karen L. Casciotti<sup>1,3</sup>, Rebecca S. R. Salcedo<sup>1</sup>, Chloé M. J. Baumas<sup>1</sup>, Anne E. Dekas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Earth System Science, Universidad de Stanford, Stanford, CA, USA.

<sup>2</sup>Departamento de Biología Marina y Oceanografía, Institut de Ciències del Mar, CSIC, Barcelona.

<sup>3</sup>Oceans Department, Universidad de Stanford, Stanford, CA, USA.

La urea es una fuente crucial de nitrógeno y energía química que sustenta la actividad microbiana en las capas superficiales del océano; no obstante, se dispone de poca evidencia directa sobre su utilización en las profundidades oceánicas. En este estudio, exploramos la utilización de urea en las regiones profundas del noreste del Océano Pacífico (desde los 50 hasta los 4000 metros de profundidad) mediante una combinación de análisis de metagenomas, tasas de nitrificación y mediciones de incorporación de isótopos estables a nivel unicelular mediante espectrometría de masas de iones secundarios a escala nanométrica (nanoSIMS).

Los resultados muestran que la mayoría (>60%) de las células activas asimilaron nitrógeno derivado de la urea, y que las tasas de incorporación de nitrógeno por célula en las incubaciones de urea superaron a las del amonio. Las concentraciones de urea y sus tasas de asimilación aumentaron por debajo de la zona eufótica, mientras que la concentración, así como las tasas de incorporación de amonio mostraron una clara disminución. En cuanto a las tasas de nitrificación, detectamos nitrificación basada en amonio y urea en todas las profundidades en la zona de muestreo más cercana a la costa, lo que demuestra el potencial de la urea para impulsar la quimioautotrofia en las regiones mesopelágica y batipelágica. Utilizando metagenomas de la zona de estudio, encontramos que el gen *ureC*, que codifica la subunidad catalítica de la ureasa, está presente en el 39% de las células de aguas profundas en esta región, incluidas las Nitrosphaerota, así como en otros trece filos, como Proteobacteria, Verrucomicrobia, Plantomycetota, Nitrospinota y Chloroflexota. Por otro lado, el análisis de metagenomas públicos del océano global reveló la presencia de *ureC* en el 10-46% de las células de aguas profundas en todo el mundo, con mayor prevalencia por debajo de la zona fótica, lo que sugiere que la urea está ampliamente disponible para el microbioma de aguas profundas a nivel global. Nuestros resultados demuestran que la urea es una fuente principal de nitrógeno para diversos grupos microorganismos en el océano profundo, así como un contribuyente significativo a la nitrificación en aguas profundas y, por lo tanto, un combustible esencial para la quimioautotrofia.

## 07. Redes gen-gen en comunidades microbianas estuarinas mediante metagenómica: congruencia ecológica e identificación de impactos ambientales

Ion L. Abad-Recio<sup>1</sup>, Leire Garate<sup>1</sup>, Verena Rubel<sup>2</sup>, Sabine Filker<sup>2</sup>, Ramiro Logares<sup>3</sup>, Thorsten Stoeck<sup>2</sup>, Anders Lanzén<sup>1,4</sup>.

<sup>1</sup>AZTI, Investigación Marina, Basque Research and Technology Alliance (BRTA) Pasaia, Gipuzkoa, España.

<sup>2</sup>Departamento de Ecología, Technische Universität Kaiserslautern, Kaiserslautern, Rheinland-Pfalz, Alemania.

<sup>3</sup>Institut de Ciències Marines (ICM), CSIC, Barcelona, Catalunya, España.

<sup>4</sup>IKERBASQUE – Basque Foundation for Science, Bilbao, Bizkaia, España.

E-mail: ionluisabad@gmail.com

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. Tras una ampliación del muestreo de la Red de Calidad de Aguas de transición y costeras de 2019, hemos extraído y secuenciado eDNA de la comunidad total de más de 100 muestras de sedimento estuarino. Desde los 3,35 Tbp de secuencias resultantes se ha elaborado un catálogo de casi 129 millones de genes putativos de cuales 3,6 se han logrado clasificar como bacteria o archaea. Este catálogo ha sido la base para la elaboración de dos redes de co-ocurrencia basadas en series temporales en las rías del Bidasoa y Oiartzun, dispares en cuanto a su estado ecológico.

El análisis topológico de las redes muestra diferencias significativas. La red elaborada con datos de Oiartzun muestra un número más alto de correlaciones negativas y gran parte de esas potenciales interacciones (vértices de la red) son de genes taxonómicamente asignados a distintos organismos, lo que puede indicar interacciones competitivas o tróficas. La red del estuario del Bidasoa, por otro lado, tiene una proporción menor de interacciones negativas y entre genes asignados a distintos taxones. Del mismo modo la complejidad de la red, medida por el *clustering coefficient* es mayor en Oiartzun. Esto es congruente con la teoría ecológica, así como con las redes basadas en datos de eDNA metabarcoding de la misma serie temporal, lo que es muy interesante de destacar, ya que esta es la primera vez, hasta donde sabemos, que el modelado de redes de coocurrencia se aplica a datos metagenómicos. Además, se está realizando el estudio de los genes “keystones” (nodos clave) de la red y su rol en el metabolismo microbiano en particular, y en el estado ecosistémico de manera holística. Este novedoso estudio demuestra que el empleo de técnicas de última generación como metagenómica de eDNA, y el análisis de los conjuntos de datos grandes y complejos mediante teoría de redes puede generar conocimientos novedosos para los estudios ecológicos, utilizando como base el microbioma.

## O8. Caracterización y variación temporal de la microbiota intestinal de la abeja silvestre *Bombus pascuorum* en el Parque Natural de Gorbea

Luis J. Chueca<sup>1</sup>, Jon Poza<sup>1</sup>, Manpreet K. Dhani<sup>2</sup>, Marion L. Donald<sup>2</sup>, Jennifer Rose<sup>1</sup>, Xabier Salgado-Irazabal<sup>1</sup>, Brais Hermosilla<sup>1</sup> y Ainhoa Magrach<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Basque Centre for Climate Change (BC3). Edif. Sede 1, 1º, Parque Científico UPV-EHU, Barrio Sarriena s/n, 48940, Leioa, Spain. [luisjavier.chueca@bc3research.org](mailto:luisjavier.chueca@bc3research.org).

<sup>2</sup> Manaaki Whenua Landcare Research, Biocontrol & Molecular Ecology. Lincoln, New Zeland.

<sup>3</sup> IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, María Díaz de Haro 3, 48013, Bilbao, Spain.

La microbiota intestinal de los polinizadores juega un papel fundamental en la salud de sus huéspedes. Debido al papel fundamental de las abejas en los ecosistemas y el actual declive que sufren muchas de sus especies, es crucial mejorar nuestra comprensión sobre la composición y variación natural de su microbioma intestinal, así como el intercambio bacteriano entre especies que coexisten. En este estudio se investigó la microbiota intestinal de *Bombus pascuorum* en el Parque Natural del Gorbea, con el objetivo de caracterizar su diversidad y evaluar las variaciones temporales y espaciales. En muestreos realizados en 16 puntos distribuidos dentro del parque, desde abril hasta julio de 2023, se capturaron un total de 127 ejemplares de *B. pascuorum* cuyo contenido intestinal fue analizado por medio de metabarcoding de la región 16S rRNA con el objetivo de caracterizar la diversidad, así como la variación espacio-temporal de su microbiota.

Se identificaron un total de 265 variantes de secuencia de amplicón (ASVs) y encontramos microbiomas intestinales simples dominados por taxones bacterianos pertenecientes a *Bombilactobacillus*, *Gilliamella* y *Snodgrassella*. El microbioma intestinal de *B. pascuorum* reveló la presencia de especies bacterianas similares a las encontradas en otras especies del género *Bombus*, lo que refleja una gran similitud en la comunidad bacteriana entre especies del mismo género. Sin embargo, se observaron diferencias importantes entre el microbioma de *B. pascuorum* y el de la abeja melífera (*Apis mellifera*). En concreto, ciertas especies generalistas comúnmente presentes en el microbioma de *A. mellifera* (e.g. *Bartonella*, *Bonbella* o *Frischella*) no se han detectado en *Bombus*. Por otro lado, no se encontró una variación significativa en el microbioma intestinal de *B. pascuorum* entre los diferentes sitios de muestreo, que probablemente representarían una metapoblación. Sin embargo, se observó una clara variación temporal, con un aumento importante en la diversidad de especies bacterianas presentes en el microbioma durante los meses de junio y julio, coincidiendo con una mayor diversidad de plantas con flor disponibles, destacando la presencia de *Apilactobacillus*, *Commensalibacter* y *Pantoea*. Estos resultados sugieren que, si bien existe una superposición en la microbiota intestinal central entre los diferentes géneros de polinizadoras de la familia Apidae, también hay cepas microbianas exclusivas que puede reflejar diferencias en su biología, dieta e interacciones ecológicas.

## 09. Los ecosistemas marinos tienen un reservorio plasmídico escaso

Juan Manuel Medina-Méndez<sup>1</sup>, Santiago Redondo-Salvo<sup>1</sup>, M. Pilar Garcillán-Barcia<sup>1</sup>, Raúl Fernández-López<sup>1</sup>, Fernando de la Cruz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC), Grupo de Intergenómica. C/ Albert Einstein 22, 39011 Santander, España. [medinajm@unican.es](mailto:medinajm@unican.es) / [delacruz@unican.es](mailto:delacruz@unican.es)

Los antibióticos y los genes de resistencia a antibióticos (GRAs) son considerados contaminantes emergentes, con potencial para causar graves perturbaciones en los ecosistemas del planeta. El vertido de aguas residuales procedentes de entornos antropizados es una fuente fundamental de estos contaminantes, por lo que los ecosistemas acuáticos son particularmente vulnerables. Aunque se ha documentado la presencia de GRAs en los océanos de todo el planeta, las rutas de diseminación y el nivel de contaminación de las poblaciones bacterianas autóctonas son poco conocidas. En los ecosistemas terrestres, los plásmidos conjugativos son agentes fundamentales para la propagación de los GRAs. Su papel en los océanos es incierto, aunque estudios recientes han revelado la presencia de plásmidos marinos (PMs) de amplio rango de hospedador y distribución global. La relaxasa (RLX) es la proteína encargada de iniciar la transferencia del ADN durante la conjugación bacteriana. Es el único elemento esencial constituyente de la maquinaria de movilización (MOB), y está presente en todos los elementos transmisibles por conjugación. Por tanto, la RLX es un marcador específico de los distintos tipos plasmídicos, y se usa para clasificar plásmidos movilizables y conjugativos en las nueve clases de MOB y en unidades taxonómicas plasmídicas (PTUs).

En este trabajo hemos usado los genes codificantes de RLXs para determinar la distribución y prevalencia de los PMs y otros elementos transmisibles por conjugación, intentando definir si estos pertenecen a las mismas clases que los encontrados en ecosistemas fluviales, aguas residuales y suelos de agricultura, así como en la microbiota intestinal de mamíferos marinos y terrestres; o, si por el contrario, existen grupos especializados para cada uno de los distintos entornos. Para ello, hemos analizado la abundancia de RLXs, PMs y GRAs en casi 20.000 genomas marinos ensamblados a partir de metagenomas (MAGs) y en 370 muestras metagenómicas marinas. Nuestros resultados revelan que la prevalencia de RLXs tanto en los genomas como en las poblaciones bacterianas marinas es muy inferior a la observada en los demás ecosistemas. El análisis de los PMs reveló, además, que las unidades taxonómicas en las que estos plásmidos se agrupan tienen distribuciones restringidas a especies bacterianas específicas del entorno marino. Además de poco abundantes y específicos, los PMs tienen una carga genética diferente a la de sus homólogos terrestres. En particular, la prevalencia de GRAs es muy baja, indicando que los plásmidos autóctonos del entorno marino tienen, por el momento, poca relevancia en la propagación de los GRAs en este entorno.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto PCI2021-121978 del MCIN/AEI de España.

## O10. Papel de la agregación celular en la degradación del polisacárido complejo fucoidan por *Planctomycetes* marinas

Uxue Arrizabalaga<sup>1</sup>, Carla Pérez-Cruz<sup>1</sup>, Raquel Liébana<sup>1</sup>, Laura Alonso-Sáez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AZTI, Marine Research, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), 48395 Sukarrieta, Spain. [uarrizabalaga@azti.es](mailto:uarrizabalaga@azti.es), [cperez@azti.es](mailto:cperez@azti.es), [rliebana@azti.es](mailto:rliebana@azti.es), [lalonso@azti.es](mailto:lalonso@azti.es).

La agregación celular constituye una estrategia fundamental de las bacterias en medios acuáticos para reducir las pérdidas por difusión. En el caso de la degradación de compuestos complejos, se ha postulado que el aumento local de la densidad celular incrementa la concentración de enzimas secretadas en el entorno de las células y permite aprovechar los productos de degradación de manera más eficiente. Este fenómeno podría ser muy relevante en bacterias que crecen sobre polisacáridos, ya que, al no poder internalizarlos, necesitan realizar una primera degradación externa mediante la secreción de enzimas. Por otro lado, cepas marinas estrechamente relacionadas entre sí pueden mostrar diferencias marcadas en sus repertorios de enzimas y en los mecanismos moleculares que emplean para degradar polisacáridos complejos. En este estudio hemos analizado dos cepas marinas del filo *Planctomycetes* que hemos aislado de la macroalga *Fucus spiralis*, capaces de degradar el polisacárido complejo fucoidan: *Rhodopirellula lusitana* 913 y *Rhodopirellula báltica* 1005.

En base al número y variedad de enzimas fucosidasas codificadas en sus genomas, la cepa 913 potencialmente presenta una mayor capacidad hidrolítica del fucoidan. Mediante la combinación de técnicas ómicas y visualización en ensayos de degradación, nuestro objetivo ha sido testar si la capacidad de agregación celular es un mecanismo relevante para la degradación de polisacáridos en estas dos cepas con distinta capacidad hidrolítica. Los resultados sugieren que la cepa con menor capacidad hidrolítica se agrega más que la cepa que secreta mayores niveles de enzimas. Esto sugiere que una mayor agregación celular podría ser una estrategia para compensar una menor capacidad hidrolítica, aumentando la cooperación intracelular entre células para evitar pérdidas por difusión.

## O11. Plastisfera de distintos tipos de plásticos en aguas superficiales del puerto de Santurtzi

Helene Mendizabal<sup>1</sup>, Zuriñe Baña<sup>1,2</sup>, Itxaso Artolozaga<sup>1</sup>, Begoña Ayo<sup>1,2</sup>, Iñigo Azua<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencia y Tecnología. 48940. Leioa, País Vasco, España.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biología y Biotecnología Marinas Experimentales PiE-UPV/EHU. 48620. Plentzia, País Vasco, España. [hmendizabal001@ikasle.ehu.eus](mailto:hmendizabal001@ikasle.ehu.eus)

El plástico es uno de los materiales poliméricos más consumidos hoy en día y, debido a su mala gestión y recalcitrancia, los residuos plásticos contaminan tanto ecosistemas marinos como terrestres. La duración de estos plásticos en el mar está fuertemente influenciada por el nivel de degradabilidad del tipo de polímero. La plastisfera, es decir, el biofilm microbiano que se crea en los plásticos marinos, es de vital importancia en su descomposición ya que algunas bacterias y hongos marinos son capaces de utilizar el plástico como fuente de carbono y energía para su crecimiento. El aislamiento e identificación de los microorganismos de los biofilms y la caracterización de actividades enzimáticas potencialmente relacionadas con su degradación como lacasas, lipasas y estererasas permite, en un contexto de biotecnología azul, encontrar microorganismos marinos con potencial para degradar plásticos.

En este estudio se analizó la plastisfera de 3 tipos de plástico de alta biodegradabilidad (ácido poliláctico, y su mezcla con polihidroxialcanato o polihidroxitirato) y 5 de baja biodegradabilidad (poliestireno de alto impacto, polietileno, policarbonato, polipropileno y acrilonitrilo butadieno estireno) formada tras sumergirlos 15 días en aguas superficiales del puerto de Santurtzi. Los objetivos del trabajo fueron: 1) caracterizar la abundancia, viabilidad y cultivabilidad de la comunidad bacteriana del biofilm, 2) aislar e identificar microorganismos de la plastisfera y, 3) analizar las actividades lipasa de cadena corta y larga, poliesterasa y lacasa de los aislados.

La rápida y fuerte colonización bacteriana de todos los plásticos los convirtieron en puntos calientes (hot spots) bacterianos, principalmente la mezcla de ácido poliláctico y polihidroxialcanato, plástico con alto nivel teórico de degradabilidad. Se aislaron e identificaron 150 bacterias y 56 hongos asociados a la plastisfera. Si bien las clases y géneros de microorganismos aislados más abundantes fueron comunes en los diferentes plásticos, *Gammaproteobacteria* y *Vibrio* en el caso de las bacterias, y *Saccharomycetes* y *Eurotiomycetes* y *Penicillium* en el caso de los hongos, se observó una mayor variabilidad taxonómica bacteriana y fúngica en los plásticos considerados más biodegradables. Las bacterias presentaron una mayor distribución y mayores niveles de las actividades lipasa de cadena corta y larga, poliesterasa y lacasa que los hongos, siendo la actividad lipasa de cadena corta la más ampliamente distribuida. Las bacterias *Alteromonas litorea* y *Alteromonas gracili* y la levadura *Candida zeylanoides* aisladas de los plásticos en este trabajo presentaron un amplio espectro de altas actividades enzimáticas, lo que las convierte en posibles modelos de estudio para el análisis de la descomposición enzimática de los plásticos en el mar mediada por microorganismos.



## **SESIÓN 3 SAIOA**

# **Oinarrizko Mikrobiologia eta Mikrobiologia Biomedikoa Microbiología Básica y Biomédica**

### **Moderatzaileak / Moderadores**

Aitziber Antoran (UPV/EHU)

Giulia Carrano (UPV/EHU)

Ane del Río (AZTI)

Andoni Ramirez (UPV/EHU)

## **Salud global: la nueva estrategia frente a la amenaza medioambiental**

Ignacio López-Goñi

*Universidad de Navarra, Departamento de Microbiología y Parasitología, c/ Irunlarrea sn, 31008, Pamplona (Navarra). [ilgoni@unav.es](mailto:ilgoni@unav.es)*

VIH, resistencia a los antibióticos, virus del Nilo Occidental, Crimea-Congo, coronavirus, COVID-19, viruela del mono, gripe H5N1...¿Qué está pasando? ¿Por qué surgen nuevos patógenos?¿Qué relación tienen el cambio climático con la aparición de nuevas enfermedades infecciosas? Más del 70% de estas nuevas infecciones son zoonosis, virus de animales que saltan al ser humano. Pequeños cambios de temperatura y humedad pueden favorecer ese flujo de microorganismos patógenos desde el mundo animal al ser humano, y viceversa. Si queremos prevenir futuras amenazas para nuestra salud la estrategia es la colaboración entre la salud humana, la salud animal y la del planeta, porque todo está conectado. Es lo que se denomina Una Salud o *One Health*.

## O12. Protección e interferencia diagnóstica inducida por prototipos de vacunas inactivadas por calor, inactivadas por fagos y vivas contra la tuberculosis animal

Leire Fernández-Veiga<sup>1</sup>, Miguel Fuertes<sup>1</sup>, María V. Geijo<sup>1</sup>, Natalia Elguezabal<sup>1</sup>, Rafael Prados-Rosales<sup>2</sup>, David Sánchez-Martel<sup>1</sup>, Lorraine Michelet<sup>3</sup>, Maria Laura Boschioli<sup>3</sup>, Bernat Pérez de Val<sup>4</sup>, Gareth J. Jones<sup>5</sup>, Ramón A. Juste<sup>1</sup>, Joseba M. Garrido<sup>1</sup>, Iker A. Sevilla<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Sanidad Animal/ NEIKER-BRTA. 48160 Derio, Bizkaia, Spain.

<sup>2</sup>Department of Preventive Medicine and Public Health and Microbiology/ School of Medicine/ Universidad Autónoma de Madrid. 28039 Madrid, Spain.

<sup>3</sup>Université Paris-Est, Laboratoire de Santé Animale/ Unité Zoonoses Bactériennes/ ANSES. Maisons-Alfort, 94701, France.

<sup>4</sup>IRTA/ Programa de Sanitat Animal y Unitat mixta d'investigació IRTA-UAB en Sanitat Animal/ CReSA/ Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra, Catalonia, 08193, Spain.

<sup>5</sup>Department of Bacteriology/ APHA. Surrey, KT15 3NB, United Kingdom.

Los programas de erradicación de la tuberculosis han logrado resultados favorables en muchas regiones. Sin embargo, la infección, causada principalmente por *Mycobacterium bovis* o *M. caprae*, sigue minando considerablemente la rentabilidad de la industria ganadera, sobre todo en regiones o países donde la infección persiste y/o esta estrategia es socioeconómicamente inviable. En este escenario, la vacunación surge como una alternativa prometedora y rentable para ayudar a reducir el impacto y la propagación de la enfermedad. En este estudio, realizamos una evaluación preliminar de la interferencia diagnóstica y la capacidad protectora de siete prototipos de vacunas preparadas a partir de *M. bovis*, *M. caprae* y *M. microti*: tres inactivadas por calor, tres inactivadas por fagos y una vacuna viva atenuada. La interferencia diagnóstica se evaluó en cobayas y la protección en ratones. Todas las vacunas ensayadas indujeron reacciones en la intradermorreacción (IDR) en respuesta a la tuberculina bovina estándar (PPD-B), pero fueron menores en los grupos de vacunas inactivadas por fagos. Además, las vacunas probadas fueron compatibles con la IDR de antígenos específicos basados en ESAT-6, CFP-10 y Rv3615c. A diferencia del resto de los prototipos, la vacunación con *M. microti* inactivada por calor y por fagos no provocó la producción de anticuerpos detectables contra los antígenos MPB70/83. La carga bacteriana fue menor en todos los grupos vacunados en comparación con el control, especialmente en las muestras de pulmón de los grupos de *M. microti* inactivada por calor y *M. caprae* inactivada por calor y por fagos. Considerando de manera conjunta tanto la interferencia diagnóstica global (independientemente de que se usen los antígenos oficiales o los específicos) como el grado de protección conferido, la vacuna de *M. microti* inactivada por calor resultó la más prometedora. No obstante, otros de los prototipos, como los basados en inactivación mediante fagos o en cepas vivas atenuadas, también merecen continuar siendo optimizados y evaluados. Resulta necesario invertir más recursos en el desarrollo de nuevas vacunas dirigidas a controlar e incluso erradicar la tuberculosis animal.

### **O13. Silenciamiento y activación de un Sistema de Secreción Tipo VI codificado en un plásmido conjugativo**

María del Mar Quiñonero-Coronel<sup>1</sup>, Sheila González-Gutiérrez<sup>1</sup>, Fernando de la Cruz<sup>1</sup>, Eric Cascales<sup>2</sup>, M. Pilar Garcillán-Barcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Universidad de Cantabria – CSIC, Santander.*

<sup>2</sup>*Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Macromoléculaires (LISM, UMR 7255), Institut de Microbiologie de la Méditerranée (IMM), Aida Marseille Univ, CNRS, Marseille, France.*

[quinoneromm@unican.es](mailto:quinoneromm@unican.es)

El Sistema de Secreción Tipo VI (T6SS) es un complejo multiproteico presente en bacterias Gram-negativas que permite inyectar efectores de manera dependiente de contacto a otras células, tanto procariotas como eucariotas. Su papel es crítico en la competición en comunidades microbianas y en virulencia. Estos sistemas están principalmente codificados en cromosomas, pero nuestro análisis bioinformático encontró también T6SSs asociados a varias Unidades Taxonómicas Plasmídicas (PTUs). La funcionalidad de los T6SSs codificados en plásmidos está escasamente probada.

En este trabajo, nos centramos en el mecanismo de regulación y actividad de un T6SS codificado en una PTU de *Enterobacteriales*. Empleando reporteros de fluorescencia en diferentes contextos genéticos se identificó un regulador negativo y otro positivo, H-NS y SlyA, respectivamente. El papel de estos reguladores se correlaciona tanto a nivel de expresión génica (RNA-Seq), como con el ensamblaje del sistema, cuyas dinámicas han sido estudiadas mediante microscopía de fluorescencia a lo largo del tiempo. Además, se evaluó la toxicidad de dos posibles efectores en células bacterianas y de levaduras, siendo estas últimas susceptibles a uno de ellos. En resumen, este estudio presenta el primer T6SS activo codificado en un plásmido conjugativo.

Financiación:

Ministerio de Universidades (FPU20/04579); EMBO Scientific Exchange Grant (10617); Ministerio de Ciencia e Innovación (proyecto MCIN/AEI10.13039/501100011033 PID2020-117923GB-100).

## O14. Los organoides intestinales derivados de pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal reproducen la enfermedad y son clave para estudiar las interacciones microbiota-hospedador

Ainize Peña Cearra<sup>1,2,3\*</sup>, Diana Coman<sup>1</sup>, Juan Anguita<sup>3</sup>, Leticia Abecia<sup>2,3</sup>, Joana F Neves<sup>1</sup>

<sup>1</sup> King´s College London, Centre for Host – Microbiome Interactions. Guy´s Hospital, London.

<sup>2</sup> Department of Immunology, Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine and Nursing, University of the Basque Country (UPV/EHU), Bilbao, Spain

<sup>3</sup>Inflammation and Macrophage Plasticity Laboratory, CIC bioGUNE, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, Spain

\*[ainize.pena@ehu.eus](mailto:ainize.pena@ehu.eus)

**Introducción:** La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) es un grupo de trastornos inflamatorios crónicos del tracto gastrointestinal, de etiología desconocida. La microbiota intestinal es clave en su desarrollo, aunque no se sabe si es origen o consecuencia de la enfermedad. Además, se desconocen los mecanismos de interacción entre el huésped y la microbiota, especialmente en las células epiteliales intestinales. Para estudiarlo, se han desarrollado organoides intestinales que reflejan la fisiología normal y la patogénesis de diferentes enfermedades. Estos organoides contienen diversos tipos de células epiteliales y mantienen su polaridad apical-basal, exhibiendo funciones in vivo como la producción de moco y la absorción y secreción.

**Métodos:** Se generaron organoides humanos a partir de tejido sano e inflamado, obtenidos de cirugías de pacientes con EII, y se caracterizaron mediante qPCR e inmunofluorescencia. Para estudiar las interacciones entre bacterias y el hospedador, se optimizó el modelo con orientación apical hacia el exterior, y se realizó un experimento preliminar con *Lactobacillus casei* y una cepa potencialmente patógena de *E. coli*. Posteriormente, se generaron y optimizaron monocapas intestinales 2D.

**Resultados:** En la caracterización de los organoides intestinales, se detectaron diferencias en la expresión génica entre organoides inflamados y no inflamados. Se observó una reducción en *MUC2* (células caliciformes) y *CLDN5* (uniones estrechas), coherente con estudios previos, mientras que *Ki67* (proliferación) aumentó en los organoides inflamados, contrario a lo reportado. También se incrementó el factor de transcripción inflamatorio NFκB y la expresión de moléculas del MHC clase II, mientras que los receptores de ácido retinoico disminuyeron en línea con lo publicado, y *RHOA* se redujo, en contra a lo publicado. Un experimento preliminar con organoides apicales hacia fuera mostró que las bacterias modulaban los niveles de expresión de *NFKB1* y *CLDN5*. Dado que la viabilidad de los organoides disminuía, se generaron y optimizaron monocapas intestinales.

**Conclusiones:** Los organoides intestinales recapitulan las características de la EII, representando un modelo in vitro clave para su estudio. A través del uso de monocapas intestinales, estos organoides pueden ser expuestos a diferentes microorganismos y/o células inmunes, lo que permite investigar el daño y la reparación de la barrera intestinal, ofreciendo la posibilidad de identificar nuevas dianas terapéuticas.

## O15. Avances en el inmunodiagnóstico de *Scedosporium/Lomentospora* en pacientes con fibrosis quística

Leire Martin-Souto<sup>1,2</sup>, Lucia Abio<sup>1</sup>, Leire Aparicio-Fernandez<sup>1</sup>, Maialen Areitio<sup>1</sup>, Oier Rodriguez<sup>1</sup>, Maria Teresa Martin-Gomez<sup>3</sup>, Jean-Philippe Bouchara<sup>4</sup>, Carsten Schwarz<sup>2,5</sup>, Aitor Rementeria<sup>1</sup>, Aitziber Antoran<sup>1</sup>, Idoia Buldain<sup>1</sup>, Andoni Ramirez-Garcia<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU);

<sup>2</sup>Department of Education and Research, Health and Medical University-Health and Medical University Potsdam; <sup>3</sup>Dpto. Microbiología, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona; <sup>4</sup>Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène, Institut de Biologie en Santé -IRIS, Centre Hospitalier Universitaire, Angers; <sup>5</sup>Division of Cystic Fibrosis, Cystic Fibrosis Center West Brandenburg, Postdam. E-mail: [andoni.ramirez@ehu.eus](mailto:andoni.ramirez@ehu.eus)

Las especies de los géneros *Scedosporium* y *Lomentospora* son patógenos emergentes que ocupan el segundo lugar, después de *Aspergillus*, entre los hongos filamentosos más frecuentes que causan colonizaciones crónicas en las vías respiratorias de pacientes con fibrosis quística (FQ). Sin embargo, su detección depende principalmente del cultivo de muestras respiratorias, una técnica de baja sensibilidad y especificidad que requiere tiempos prolongados de incubación. Con el objetivo de desarrollar nuevas estrategias de detección eficaces, se ha profundizado en el inmunodiagnóstico de los hongos *Scedosporium/Lomentospora* en pacientes con FQ.

Para ello, se estudió la utilidad de diferentes extractos proteicos de *Scedosporium boydii* mediante ELISA. El extracto total mostró una alta sensibilidad y especificidad para discriminar serológicamente a los pacientes con cultivos positivos para *Scedosporium/Lomentospora* (Scedo+), de los pacientes con cultivos positivos para *Aspergillus* (Asp+) o de pacientes control sin colonización fúngica. En vista del potencial diagnóstico, esta técnica se trasladó a un sistema rápido y portátil que permite obtener el resultado en 12 minutos. El test se validó con 303 muestras de suero de pacientes con FQ obteniendo valores de 86% y 76% de sensibilidad y especificidad, respectivamente. Actualmente, se está probando el test rápido con muestras de sangre capilar para conferir la característica de *Point-Of-Care Testing*, obteniendo resultados prometedores. Para evitar la reactividad cruzada que puede producirse al usar extractos totales, la investigación también se centra en la búsqueda de nuevas dianas específicas, identificando antígenos específicos reconocidos por las IgG séricas de los pacientes Scedo+. Para ello, se han realizado estudios inmunoproteómicos mediante electroforesis bidimensional (2-DE) y *Western Blot* (WB), y se han identificado por espectrometría de masas (LC-MS/MS) 17 antígenos específicos de *S. boydii*. Actualmente, algunos de estos antígenos se están produciendo como proteínas recombinantes, lo que contribuirá a estandarizar y mejorar la especificidad del test rápido, que promete ser una herramienta muy útil para la monitorización de estos pacientes. En conclusión, este estudio ha demostrado la utilidad de los extractos proteicos de *S. boydii* para el diagnóstico serológico de *Scedosporium/Lomentospora* en pacientes con FQ. Además, se continúa trabajando en mejorar la especificidad produciendo proteínas recombinantes con potencial como dianas diagnósticas.

## O16. ¿Tras la crisis de la covid-19, aumentan los patógenos pediátricos? El caso de parvovirus B19

Mikel Gallego, Luis Elorduy, Clara Lejarraga, Patricia Iraurgi, Maider Zuriarrain, Paula Azpiazu.

*Hospital Universitario Cruces, Servicio de Microbiología. Instituto de investigación Biocruces Bizkaia.*

La infección por parvovirus B19 en el niño o el adulto es habitualmente leve o incluso asintomática. Su presentación clínica en la infancia es el eritema infeccioso o quinta enfermedad, caracterizado por un rash en ambas mejillas que posteriormente se extiende por el resto del cuerpo. En el paciente adulto es más frecuente la aparición de clínica articular. Sin embargo, en población susceptible, como embarazadas o inmunodeprimidos, puede causar infecciones graves como crisis aplásicas, anemia fetal o hidrops fetal. Desde el fin de la crisis sanitaria causada por la COVID-19 se ha observado un aumento inusual de la transmisión y casos de diversas infecciones pediátricas como la tos ferina o la infección respiratoria por *Mycoplasma pneumoniae*. El 5 de junio de 2024 el ECDC alertó un aumento inusual de casos de parvovirus en Europa y recomendó aumentar la vigilancia sobre este patógeno.

El objetivo de este trabajo es revisar el brote actual, mediante el análisis de los datos de un laboratorio clínico de un hospital de tercer nivel del País Vasco. Para ello, se han extraído los resultados serológicos (IgM e IgG, quimioluminiscencia) y moleculares (PCR cualitativa y cuantitativa) específicos de parvovirus B19 durante el periodo entre octubre de 2019 y septiembre de 2024.

Durante los cinco años estudiados se realizaron 1926 PCR de parvovirus, 5554 determinaciones de IgG y 3618 determinaciones de IgM en nuestro laboratorio. El porcentaje de positividad de todo el periodo fue del 59% para la IgG, 8% para la IgM y del 17% para la PCR. Centrándonos en el periodo del brote, el porcentaje de positividad entre octubre 2023 y septiembre 2024 es del 32% para la PCR y 20% para la IgM. Se observa un aumento de IgM positivas en el periodo comprendido entre marzo y septiembre de 2024, con un pico en el mes de junio con 45 determinaciones positivas, mientras que en los meses fuera de este periodo, las determinaciones de IgM positivas no superan los 10 casos. El anterior periodo con datos comparables fue el que hizo pico en mayo de 2018.

Al igual que ocurrió previamente con *Mycoplasma pneumoniae*, estamos inmersos en un periodo de aumento de circulación de parvovirus que parece haber tenido su zenit en junio de 2024 pero que continúa vigente. Los datos porcentuales avalan que los resultados positivos se deben al aumento de la circulación y no al aumento de los diagnósticos debido a la mayor accesibilidad de las técnicas diagnósticas. Este aumento de casos concurre aproximadamente seis años tras el periodo epidémico previo.



## O17. Estudio del papel del inmunometabolismo y la memoria inmune innata en la lucha contra infecciones fúngicas en mucosas

Aize Pellon<sup>1,2</sup>, Shervin Dokht Sadeghi Nasab<sup>1</sup>, Gholamreza Bidkhor<sup>1</sup>, James S. Griffiths<sup>1</sup>, Jonathan P. Richardson<sup>1</sup>, Julian R. Naglik<sup>1</sup>, Saeed Shoaie<sup>1</sup>, Juan Anguita<sup>2,3</sup>, David L. Moyes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre for Host-Microbiome Interactions, Faculty of Dentistry, Oral & Craniofacial Sciences, King's College London, London, UK.

<sup>2</sup>Inflammation and Macrophage Plasticity Laboratory, CIC bioGUNE-BRTA (Basque Research and Technology Alliance), Derio, Spain.

<sup>3</sup>Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain.

Contacto: [apellon@cicbiogune.es](mailto:apellon@cicbiogune.es); [janguita@cicbiogune.es](mailto:janguita@cicbiogune.es); [david.moyes@kcl.ac.uk](mailto:david.moyes@kcl.ac.uk).

Introducción: La interacción del hongo patobionte *Candida albicans* con células inmunitarias induce cambios inmunometabólicos en éstas, los cuales regulan tanto las respuestas agudas como a largo plazo (i.e., memoria inmune innata). Estas alteraciones se han descrito principalmente en macrófagos y en el contexto de infección sistémica, y demuestran el papel regulador de ciertas rutas metabólicas y la disponibilidad de metabolitos específicos. Sin embargo, en las mucosas son las células epiteliales las encargadas de coordinar respuestas inmunitarias y actualmente no se conoce si desarrollan alteraciones similares.

Objetivos: determinar cambios inmunometabólicos y de memoria inmune innata en células epiteliales orales (CEOs) en respuesta a *C. albicans*, así como el papel del ambiente metabólico en las interacciones hongo-hospedador.

Resultados: utilizando experimentos *in vitro*, *in vivo* y biopsias de pacientes, demostramos que las CEOs sufren reprogramación metabólica después de la infección, aumentando la glucólisis aeróbica y disminuyendo el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA). La inhibición de la glucólisis o del transporte de glucosa muestra que estas vías regulan la liberación de citocinas, lo que sugiere un control parcial de la inmunidad antifúngica epitelial por el metabolismo celular. Por otro lado, un aumento de la disponibilidad de glucosa empeora las respuestas epiteliales tanto *in vitro* como *in vivo*, sugiriendo que el hongo se beneficia de este cambio metabólico y que el aumento de la glucólisis aeróbica en las CEOs es perjudicial. Además, la modelización metabólica *in silico* predijo que la infección por *C. albicans* induce una disminución de la actividad del TCA y un aumento compensatorio de la glutamato-oxalacetato aminotransferasa 1 (GOT1), lo cual fue posteriormente demostrado experimentalmente. Finalmente, estudios preliminares nos han permitido demostrar que las CEOs son capaces de desarrollar respuestas a largo plazo dependientes de memoria inmune innata. En el futuro describiremos los mecanismos moleculares subyacentes, así como el impacto de este mecanismo *in vivo*.

Conclusiones: Este estudio revela un papel fundamental del metabolismo de hexosas e identifica un nuevo desvío del ciclo TCA mediado por GOT1 en la regulación de la supervivencia de las CEOs y las respuestas inmunitarias durante las infecciones fúngicas mucosas. Además, estos cambios inmunometabólicos se conectan con el desarrollo de memoria innata epitelial.

## **O18. Degradación de magnetosomas de *Magnetospirillum gryphiswaldense* en un modelo de carcinoma pulmonar a nivel intracelular**

Alicia G. Gubieda<sup>1</sup>, Lucía Gandarias<sup>1</sup>, Mihály Pósfai<sup>2</sup>, Ajith Pattammattel<sup>3</sup>, M. Luisa Fdez-Gubieda<sup>4</sup>, Ana Abad Díaz de Cerio<sup>1</sup>, Ana García-Prieto<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Leioa, UPV/EHU

<sup>2</sup>Research Centre of Biomolecular & Chemical Engineering, University of Pannonia, Hungría

<sup>3</sup>National Synchrotron Light Source II, Brookhaven National Laboratory, NY 11973, USA

<sup>4</sup>Departamento de Electricidad y Electrónica, Leioa, UPV/EHU

<sup>5</sup>Departamento de Física Aplicada, Bilbao, UPV/EHU

Las bacterias magnetotácticas son un grupo de bacterias que pueden alinearse a lo largo del campo magnético de la tierra gracias a orgánulos llamados magnetosomas. Los magnetosomas son nanopartículas magnéticas envueltas por una bicapa lipídica que están compuestos de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) de alta pureza química, y presentan una morfología muy uniforme y una distribución de tamaño estrecha. Estas propiedades, junto con su baja toxicidad y su biocompatibilidad, las convierten en buenas candidatas para muchas aplicaciones biomédicas. A pesar del potencial biomédico de los magnetosomas, se sabe muy poco sobre su degradación en células humanas, y menos aún sobre su degradación dentro de los tumores, que son el objetivo de muchos tratamientos propuestos. Los tumores tridimensionales presentan características que podrían afectar el proceso de degradación de los magnetosomas. Por tanto, y para explorar el potencial de los magnetosomas en tratamientos contra el cáncer, hemos investigado el proceso de degradación de magnetosomas aislados de *Magnetospirillum gryphiswaldense* en un modelo tridimensional de carcinoma pulmonar humano durante 36 días.

Describimos el proceso de degradación a nivel subcelular y con resolución nanométrica, utilizando técnicas de radiación sincrotrón, nano-XANES y nano-XRF. La resolución espacial de estos métodos permite la detección de fases de hierro, incluso si son minoritarias dentro de la muestra global.

Nuestros resultados revelan dos procesos diferentes: por un lado, observamos una oxidación de los magnetosomas a maghemita, que ocurre principalmente durante los primeros 10 días. Por otro lado, detectamos la mineralización *de novo* de pequeñas partículas de magnetita y ferrihidrita por ferritina. Por lo tanto, la baja tasa de degradación de los magnetosomas dentro de los tumores y su capacidad para biosintetizar magnetita sugiere que se podrían utilizar dosis bajas de magnetosomas durante períodos prolongados para tratamientos contra el cáncer.

## O19. Alternativas probióticas para combatir las infecciones producidas por *Candida*

Katherine Miranda-Cadena, Leticia Abecia, Estibaliz Mateo, Cristina Marcos-Arias, Andrea Guridi, Elena Sevillano, Guillermo Quindós y Elena Eraso

Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería. Grupo de investigación CanBIO: «Candidiasis y otras enfermedades asociadas a biopelículas» (GIC21/24 IT-900-16). Barrio Sarriena, s/n, 48940 Leioa, España. Email [katherine.miranda@ehu.eus](mailto:katherine.miranda@ehu.eus); [leticia.abecia@ehu.eus](mailto:leticia.abecia@ehu.eus); [estibaliz.mateo@ehu.eus](mailto:estibaliz.mateo@ehu.eus); [cristina.marcos@ehu.eus](mailto:cristina.marcos@ehu.eus); [andrea.guridi@ehu.eus](mailto:andrea.guridi@ehu.eus); [elena.sevillano@ehu.eus](mailto:elena.sevillano@ehu.eus); [guillermo.quindos@ehu.eus](mailto:guillermo.quindos@ehu.eus); [elena.eraso@ehu.eus](mailto:elena.eraso@ehu.eus)

Las especies del género *Candida* incluyen patógenos oportunistas asociados a infecciones humanas. *Candida albicans* es la especie más prevalente implicada en infecciones superficiales y profundas, sin embargo, otras especies con sensibilidad reducida o resistencia a los fármacos antifúngicos convencionales están aumentando su frecuencia. La capacidad de formar biopelículas en superficies inertes y tejidos constituye un importante factor de virulencia de *Candida* que puede comprometer el éxito terapéutico y aumentar infecciones recalcitrantes. Las bacterias ácido lácticas presentes en la microbiota humana pueden ser una fuente de compuestos terapéuticos para el manejo de las candidiasis. Por lo tanto, en nuestro laboratorio se ha estudiado la actividad del secretoma y los metabolitos de tres cepas de bacterias ácido lácticas: *Lacticaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum* y *Lactiplantibacillus rhamnosus*. Su actividad *in vitro* se evaluó contra células sésiles de la cepa de referencia *C. albicans* SC5314, de tres aislamientos clínicos de *C. albicans*, uno de *Candida auris*, uno de *C. dubliniensis* y cuatro de *Candida tropicalis*.

El secretoma de *L. casei* presentó mayor actividad inhibitoria contra la formación de la biopelícula de *Candida*. Posteriormente, los metabolitos que presentaron mayor actividad anti-biopelícula fueron analizados en combinación con fluconazol *in vitro* e *in vivo* en el modelo animal de *Galleria mellonella*. De los metabolitos analizados, la riboflavina presentó un importante efecto *in vitro* reduciendo la actividad metabólica de las biopelículas de *Candida* tanto en monoterapia como en combinación con fluconazol. La combinación de riboflavina y fluconazol mostró un efecto terapéutico *in vivo*, ya que redujo la mortalidad en el modelo *G. mellonella* tras 120 h de infección por un aislamiento de *Candida* resistente a fluconazol. Como conclusión, el secretoma de bacterias probióticas es una fuente potencial de metabolitos activos para tratar las infecciones asociadas a biopelículas producidas por *Candida*.

**POSTERRAK**  
**PÓSTERS**

## **SESIÓN 1 SAIOA**

# **Elikagaien Mikrobiologia Microbiología Alimentaria**

## P1. Estudio de la respuesta transcriptómica de *Saccharomyces cerevisiae* a vesículas extracelulares de otras levaduras enológicas

Miguel Mejías-Ortiz, Guillermo Juárez, [Ramón Gonzalez](mailto:rgonzalez@icvv.es), Pilar Morales

Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC, Universidad de La Rioja, Gobierno de La Rioja),  
Finca La Grajera, 26007 Logroño (La Rioja). [rgonzalez@icvv.es](mailto:rgonzalez@icvv.es).

Las levaduras no-*Saccharomyces* han adquirido relevancia en la industria enológica debido a su uso como cultivos iniciadores para diversificar sensorialmente los vinos, y como agentes de biocontrol, entre otras aplicaciones. En este contexto, donde la fermentación ya no está dominada casi exclusivamente por una única especie de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), surgen preguntas sobre las interacciones que se establecen entre las especies inoculadas y el impacto que podrían tener sobre el producto final.

Entre los diversos mediadores de interacciones biológicas se encuentran las vesículas extracelulares (VEs). Estas son estructuras formadas por una bicapa lipídica que son producidas por las levaduras y liberadas al entorno extracelular (Mencher *et al.*, 2020). Estudios previos han revelado una respuesta transcriptómica de *S. cerevisiae* a las vesículas extracelulares de *Metschnikowia pulcherrima* (Mejias-Ortiz *et al.*, 2023), similar a la que inducen células activas de la misma especie (*M. pulcherrima*).

En este estudio, hemos analizado el efecto de las VEs producidas por cuatro especies de levaduras no-*Saccharomyces* de interés enológico: *M. pulcherrima*, *Torulaspora delbrueckii*, *Candida sake* y *Hanseniaspora uvarum* sobre el transcriptoma de *S. cerevisiae*. A través de un análisis de RNA-Seq, se identificaron los genes diferencialmente expresados para las respuestas correspondientes a las VEs de cada especie. Mediante el método de GSEA (*Gene Set Enrichment Analysis*) se estudiaron las categorías funcionales enriquecidas relacionadas con los genes diferencialmente expresados y se identificaron las categorías comunes a todas las especies.

Entre los genes que muestran mayor expresión en presencia de VEs se ha observado un enriquecimiento de categorías funcionales relacionadas con la actividad ribosomal, el metabolismo de los ácidos nucleicos, de algunos aminoácidos y del ciclo celular. En cuanto a los que ven afectada negativamente su expresión, las categorías enriquecidas están relacionadas con el metabolismo de diversos azúcares y con la meiosis.

Este trabajo ha sido financiado por el Gobierno de España a través del proyecto PID2019-105159RB-I00 y la ayuda PRE2020-093420 (contrato de MMO) financiados por MCIN/AEI /10.13039/501100011033.

Mejias-Ortiz, M. *et al.* (2023) «*Saccharomyces cerevisiae* responds similarly to co-culture or to a fraction enriched in *Metschnikowia pulcherrima* extracellular vesicles», *Microbial Biotechnology*, 16(5), pp. 1027-1040. doi: 10.1111/1751-7915.14240.

Mencher, A. *et al.* (2020) «Proteomic characterization of extracellular vesicles produced by several wine yeast species», *Microbial Biotechnology*, 13(5), pp. 1581-1596. doi: 10.1111/1751-7915.13614.

## P2. Selección y evolución en co-cultivos de levaduras enológicas

Pilar Morales, Miguel Mejías-Ortiz, Ana Martín-María, Ana Perea-Martínez, Cristina Juez, Laura López-Berges, Ramón Gonzalez

*Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC, Universidad de La Rioja, Gobierno de La Rioja), Finca La Grajera, 26007 Logroño (La Rioja). pilar.morales@icvv.es.*

*Saccharomyces cerevisiae* es la especie de levadura que domina la mayor parte de las fermentaciones enológicas espontáneas, y ha sido la única especie utilizada industrialmente como cultivo iniciador hasta principios de este siglo. Sin embargo, la fermentación del mosto de uva no depende únicamente de esta especie, tanto porque el sustrato de fermentación contiene numerosas especies de levaduras, como por el creciente uso de cultivos iniciadores de levaduras alternativas, en combinación con *S. cerevisiae*. En este contexto, el estudio de las interacciones entre diferentes especies de levaduras adquiere relevancia biotecnológica y académica.

En este trabajo se describen dos aproximaciones metodológicas para la identificación de potenciales mecanismos de interacción entre especies de levaduras. Ambas se basan en la competición entre cepas de *S. cerevisiae* en presencia o ausencia de otras especies. En la primera de ellas compiten cepas derivadas de *S. cerevisiae* BY4743 (diploide de laboratorio), cada una de ellas con una delección en homocigosis de un gen no esencial (colección YKO, con unos 5000 aislados). Cada una de estas cepas contiene además secuencias únicas (barcode) que la diferencian en el conjunto de todas ellas. Se han realizado cultivos de esta colección en presencia o ausencia de *Torulaspora delbrueckii*, *Hanseniaspora uvarum*, *Lachancea thermotolerans* o *Metschnikowia pulcherrima*. Mediante la secuenciación de los barcodes (BAR-Seq), se ha comparado la composición de cepas de *S. cerevisiae* tras diez generaciones en cada una de las condiciones. La otra aproximación consiste en el desarrollo de evoluciones experimentales de una cepa enológica de *S. cerevisiae* frente a *T. delbrueckii*, *H. uvarum*, *M. pulcherrima* o *Candida zemplinina*. Todos los experimentos se realizan en mosto natural reconstituido hasta alcanzar más de 200 generaciones de evolución.

Los experimentos de competición de mutantes apuntan a genes de la ruta de asimilación de sulfato, en concreto los genes (*MET3*, *MET14*, *MET16*, *MET5*) además de *MET17* (necesario para la síntesis de L-cisteína), como genes importantes para la supervivencia en presencia de *T. delbrueckii*. Por otro lado, al cabo de unas 100 generaciones de evolución experimental se aprecia un incremento de morfologías de colonia en los cultivos en presencia de *M. pulcherrima* o *Candida zemplinina*; incluyendo una frecuencia aumentada de mutantes defectivos en respiración (petite). Actualmente seguimos completando los experimentos y analizando resultados.

Este trabajo ha sido financiado por el Gobierno de España a través de la Ayuda PID2022-136815OB-I00 y contrato predoctoral AMM financiados por MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033 y por “FEDER Una manera de hacer Europa”, y PRE2020-093420 financiada por MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033 y por “FSE Invierte en tu futuro” (contrato predoctoral de MMO).



### **P3. Optimización de un método de extracción de núcleos celulares de *Magnaporthe oryzae* procedente de diferentes estadios de crecimiento del hongo**

Xabier Guruceaga, Carlos Bravo-Buitrago & Miriam Oses-Ruiz\*

IMAB, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Campus Arrosadía, Pamplona, Navarra 31006, España. [miriam.oses@unavarra.es](mailto:miriam.oses@unavarra.es)

*Magnaporthe oryzae* es un hongo filamentoso causante de la enfermedad conocida como “Quemazón del arroz” o Piriculariosis, presente en más de 85 países. Anualmente destruye suficiente arroz como para alimentar a 60 millones de personas afectando, además, a cultivos de primera necesidad como son el trigo, mijo o cebada. Para causar infección *M. oryzae* produce esporas tricelulares que se depositan en las hojas de la planta. Tras la detección de condiciones ambientales óptimas como son alta humedad, hidrofobicidad de la superficie, rigidez y escasez de nutrientes disponibles, el conidio germina formando un tubo germinativo desde su célula apical. El tubo germinativo se diferencia en una nueva célula especializada llamada apresorio, cuya función es la infección. La formación del apresorio está directamente acoplada con un ciclo de mitosis, por el que el núcleo de la célula apical se duplica y el núcleo resultante migra al apresorio incipiente. Tras la mitosis el apresorio comienza a madurar, acumulando altas concentraciones de glicerol intracelular y depositándose melanina en la pared del apresorio. La melanina hace que la humedad ambiental se internalice por osmosis ayudando a generarse una gran presión de turgencia interna que es trasladada en fuerza mecánica para romper la cutícula de la hoja. A su vez, las células central y basal del conidio sufren un proceso de muerte celular mediada por la autofagia y se degradan. Durante este proceso morfogenético se ha visto que ocurren cambios transcripcionales globales de más de 6.000 genes, sin embargo, se desconoce qué cambios transcripcionales sufre cada célula de manera independiente. Entender el transcriptoma de cada uno de los núcleos durante el proceso podría ayudar a comprender cómo se regula la formación del apresorio. Esto, plantea un reto todavía poco explorado que es el aislamiento de núcleos procedentes de células del hongo.

En este trabajo se propone la optimización de un método de extracción de núcleos de distintos estadios de desarrollo del hongo como son el micelio, esporas y apresorios. Se utilizan como variables el tipo de disrupción del tejido, tipo de búfer de aislamiento, cantidad y tipo de detergente y, además, distintas combinaciones en el orden de los pasos que constituyen el protocolo. Además, se utiliza una combinación de tinciones de membrana y contenido de ADN para la visualización de núcleos por microscopía de epifluorescencia. En conjunto, nuestro trabajo pretende generar un nuevo protocolo que ayude a la obtención de preparaciones nucleares de alta pureza para hongos filamentosos. De esta manera, este estudio contribuye al avance de técnicas de última generación como son scRNAseq o IP-MS nucleares, permitiendo el estudio en profundidad de complejos y redes de señalización nucleares, que, hasta ahora, no han sido posibles realizar.

## **P4. Dinámica de las propiedades vegetales, biológicas y fisicoquímicas del suelo bajo diferentes sistemas de pastoreo de ovejas lecheras**

Mikel Anza<sup>1</sup>, Aitor Anitua<sup>1</sup>, Arrate Lacalle<sup>1</sup>, Fernando Blanco<sup>1</sup>, Lidia Castroviejo<sup>1</sup>, Lurdes Mintegi<sup>1</sup>, Ignacio Francisco Pastor<sup>1</sup>, Sonia Meller<sup>2</sup>, Jasmin Fetzer<sup>2</sup>, Paula García Rivera<sup>2</sup>, Mendi van der Vliet<sup>3</sup>, Asier Uribeetxeberria<sup>1</sup>, Nerea Mandaluniz<sup>1</sup>, Lur Epelde<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NEIKER - Basque Institute for Agricultural Research and Development, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Parque Científico y Tecnológico de Bizkaia, P812, 48160 Derio. [manza@neiker.eus](mailto:manza@neiker.eus)

<sup>2</sup>Digit Soil - Moosstrasse 47, CH-8134, Adliswil, Switzerland

<sup>3</sup>Planet Labs Germany GMBH, Kurfürstendamm 22, 10719 Berlin, Germany

El proyecto AI4SoilHealth, donde se enmarca este estudio, tiene como objetivo principal acelerar la recopilación y uso de datos sobre salud del suelo utilizando inteligencia artificial (IA). A través del desarrollo de nuevos indicadores, se podrá realizar un seguimiento y una evaluación más precisa de la salud de los suelos en Europa. Esto permitirá a los agricultores y gestores predecir cómo cambiará la salud del suelo en el futuro, ofreciendo así herramientas clave para mejorar las prácticas agrícolas y restaurar los suelos degradados. El objetivo principal de este estudio es analizar la dinámica temporal de las propiedades biológicas del suelo y su relación con las condiciones climáticas y del pasto, así como comparar dos regímenes de pastoreo: rotacional vs continuo.

Este estudio se ha llevado a cabo en las praderas experimentales de NEIKER en Arkaute, donde pastan dos grupos de ovejas de leche bajo dos tipos de pastoreo: rotacional y continuo. Se han realizado muestreos vegetales y de suelo cada tres semanas entre abril y octubre de 2024 a dos profundidades distintas (0-20 y 20-50 cm). Se han evaluado tanto descriptores relacionados con la calidad y producción de los pastos, como descriptores fisicoquímicos y biológicos de los suelos. Entre otros, se han evaluado los siguientes métodos novedosos relacionados con la microbiota edáfica: (i) DigitSoil - un sensor portátil que mide la actividad enzimática en el suelo, obteniendo así resultados en tiempo real sobre la descomposición de la materia orgánica y otros procesos biológicos importantes; (ii) microBIOMETER - una herramienta portátil que mide la biomasa microbiana del suelo y la proporción de hongos y bacterias utilizando una aplicación móvil; (iii) Slakes - que permite medir la estabilidad de los agregados en el suelo mediante una aplicación móvil; (iv) eDNA y eRNA metabarcoding de 16S rRNA e ITS, para poder diferenciar las comunidades de procariontas y hongos totales y activos, respectivamente.

Los resultados preliminares muestran diferencias en los descriptores analizados entre las dos profundidades de suelo estudiados, así como a lo largo del tiempo, siendo el factor relacionado con el tipo pastoreo el que menor efecto tuvo a la hora de explicar la variabilidad de los datos. Las nuevas herramientas de diagnóstico de la salud del suelo evaluadas en este estudio permiten realizar una evaluación más rápida y menos costosa, pero es importante tener en cuenta aspectos como su variabilidad espacio-temporal.

## P5. Estudio hologenómico de la abeja melífera bajo diferentes estrategias de manejo apícola para fomentar su resiliencia

Melanie Parejo<sup>1</sup>, Luis Javier Chueca<sup>2</sup>, Jorge Langa<sup>1</sup>, June Gorrochategui<sup>1</sup>, Sofía Marcos<sup>1</sup>, Egoitz Galartza<sup>1,3</sup>, Xose Manuel Durans<sup>4</sup>, Andone Estonba<sup>1</sup>, BEEGUARDS Consortium, [Iratxe Zarraonaindia](mailto:iratxe.zarraonaindia@ehu.es)<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Genómica y Bioinformática Aplicada, Barrio sarriena s/n, 48940 Leioa.

<sup>2</sup> BC3 - Basque Centre for Climate Change - Klima Aldaketa Ikergai, 48940 Leioa.

<sup>3</sup> ERBEL, Erle Beltz Hazleen Elkartea, 20247 Zaldibia.

<sup>4</sup> Programa MENA de Investigación e Experimentación en Apicultura, Santiago de Compostela.

<sup>5</sup> IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao. [iratxe.zarraonaindia@ehu.es](mailto:iratxe.zarraonaindia@ehu.es)

El sector apícola europeo sufre grandes pérdidas anuales por causas multifactoriales. El uso obligatorio de productos zoonosanitarios y la alimentación artificial están volviendo al sector cada vez más insostenible. Por ello, es urgente desarrollar estrategias de manejo que mejoren su sostenibilidad, reduciendo la dependencia de tratamientos químicos. También se requiere un enfoque holístico sobre la salud de las abejas para enfrentar los desafíos globales. Un componente clave en la salud de la abeja es su microbiota intestinal, la cual desempeña un papel esencial en la digestión, la defensa contra patógenos y la regulación del sistema inmunológico, lo que la convierte en un área clave de investigación para mejorar la sostenibilidad de la apicultura. Una microbiota equilibrada y saludable puede permitir a las abejas melíferas responder de manera más eficiente a infecciones por patógenos o a perturbaciones como la exposición a pesticidas agrícolas. Así en diversos proyectos, e.g. ECOAPI (TED2021-131393B-I00, 2022-2025) y BEEGUARDS (Horizon Europe, 2023-2027), hemos puesto en marcha estudios de campo a gran escala, así como ensayos de laboratorio, en los que empleamos manejos alternativos que evitan el uso de tratamiento químicos con el objetivo de estimular que las abejas desarrollen sus propias defensas fortaleciendo así su capacidad de resistencia a enfermedades y su supervivencia. Desde una perspectiva de la ecología microbiana, nuestro objetivo es determinar si manejos alternativos conllevan el enriquecimiento o depleción de ciertas variantes y/o funciones microbianas asociadas con la resiliencia, y si estos resultados son extrapolables a distintos climas y subespecies de abeja melífera. Para ello implementamos un marco holístico, generando datos hologenómicos ((meta)genomas y (meta)transcriptomas) que vinculamos tanto a observaciones fenotípicas (patrones de desarrollo, carga de patógenos, rendimiento y supervivencia de las colonias) como a datos ambientales. Un mayor conocimiento sobre las interacciones entre las abejas y su microbiota asociada permitirá tomar decisiones más informadas para una apicultura resiliente. Finalmente, la reducción de aplicaciones zoonosanitarias disminuye el impacto ambiental de la apicultura, reduce los residuos en los productos apícolas y disminuye el impacto sobre los polinizadores silvestres.

## P6. Evaluación de la interferencia diagnóstica y de la protección de vacunas inactivadas y vivas frente a la tuberculosis caprina

Leire Fernández-Veiga<sup>1</sup>, Miguel Fuertes<sup>1</sup>, María V. Geijo<sup>1</sup>, Elena Molina<sup>1</sup>, Maddi Oyanguren<sup>1</sup>, David Sánchez-Martel<sup>1</sup>, Marta Barral<sup>1</sup>, Natalia Elguezabal<sup>1</sup>, Adrián Ramos<sup>2</sup>, Yvonne Espada<sup>2</sup>, Cristian Melgarejo<sup>3</sup>, Enric Vidal<sup>3</sup>, Gareth J. Jones<sup>4</sup>, Ramón A. Juste<sup>1</sup>, Bernat Pérez de Val<sup>3</sup>, Joseba M. Garrido<sup>1</sup>, Iker A. Sevilla<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Sanidad Animal/ NEIKER-BRTA. 48160 Derio, Bizkaia, Spain.

<sup>2</sup>Departament de medicina i Cirujia Animals/Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra, Catalonia, Spain.

<sup>3</sup>IRTA/ Programa de Sanitat Animal y Unitat mixta d'investigació IRTA-UAB en Sanitat Animal/ CReSA/ Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra, Catalonia, 08193, Spain.

<sup>4</sup>Department of Bacteriology/ APHA. Surrey, KT15 3NB, United Kingdom.

La tuberculosis animal es una enfermedad zoonótica causada por el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, siendo *M. bovis* y *M. caprae* las especies más relevantes en Europa. En España, el ganado caprino es el mayor reservorio de *M. caprae*, aunque también afecta a vacas, ovejas, jabalíes, ciervos, y otros, además de humanos. La enfermedad provoca importantes pérdidas de producción y restricciones en los sistemas ganaderos. Además del control basado en diagnóstico, la vacunación representa una valiosa herramienta complementaria. En este estudio evaluamos la capacidad protectora y la interferencia diagnóstica de una vacuna de *M. bovis* inactivada por calor (HIMB), otra de *M. caprae* (PIMC) inactivada por fagos y otra de *M. microti* viva (LMM). Se usó un grupo de cabritos por cada vacuna y un grupo control sin vacunar. Las vacunaciones tuvieron lugar 7 semanas antes del desafío, que se realizó vía intratraqueal con una cepa de *M. caprae*. Se tomaron muestras de sangre en distintos tiempos para la detección de anticuerpos mediante ELISA frente a MPB70&83 en plasma y de producción de interferón- $\gamma$  (IGRA) en sangre estimulada con los antígenos oficiales (PPD-B y PPD-A) y otros alternativos (P22 y los basados en ESAT-6, CFP-10 y Rv3615c, PCL y FP). También se analizó la producción de especies reactivas de oxígeno y la fagocitosis de neutrófilos y monocitos mediante citometría de flujo, los niveles de lactato y la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano en sangre entera. En la semana 9 se realizó la intradermorreacción (mismos antígenos que en IGRA), y posteriormente, tras el sacrificio, se caracterizó la patología (incluyendo tomografía computerizada de pulmón) y la carga bacteriana (de nódulos linfáticos). Entre los resultados más relevantes, cabe destacar que: i) a diferencia del resto de prototipos, la vacunación con LMM no generó títulos significativos de anticuerpos, manteniéndose así incluso tras el desafío. ii) todas las vacunas fueron compatibles con el diagnóstico IGRA utilizando los antígenos definidos FP y PCL. iii) la carga bacteriana fue menor en todos los grupos vacunados que en el control, especialmente en los nódulos linfáticos respiratorios del grupo HIMB. iv) el cuadro patológico fue más leve en los grupos vacunados que en el control, particularmente, en los pulmones del grupo LMM. Estos prometedores resultados animan a continuar optimizando los prototipos y los protocolos de administración en busca de una vacuna altamente protectora y compatible con las técnicas de diagnóstico.

## P7. Una nueva estrategia de control de la tuberculosis: Imprimado no-especifico con un derivado micobacteriano

Ramón A. Juste<sup>1</sup>, Gabriela Magri-Danree<sup>2</sup>, Iker A. Sevilla<sup>1</sup>, Joseba M. Garrido<sup>1</sup>, Esmeralda Minguijón<sup>1</sup>, Laureana de Brun<sup>3</sup>, Alejandra Suanes<sup>2</sup>, Martín Altuna<sup>2</sup>, María Luzardo<sup>2</sup>, Verónica Groloero<sup>2</sup>, Christian Gortazar<sup>4</sup>, José de la Fuente<sup>4</sup>, Lucas Dominguez<sup>5</sup>, Patricia Vázquez<sup>1</sup>, Mariví Geijo<sup>1</sup>, Elena Molina<sup>1</sup>, Miriam Serrano<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *1NEIKER-BRTA, Spain*

<sup>2</sup> *Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Uruguay*

<sup>3</sup> *Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay*

<sup>4</sup> *IREC, Spain*

<sup>5</sup> *VISAVET, Spain*

La tuberculosis bovina causada por miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* ha disminuido su impacto zoonótico en los países desarrollados debido al tratamiento térmico de la leche de vacuno y a la implantación de programas de control de la infección. Pese al éxito logrado en algunos países con economías fuertes, la única estrategia reconocida oficialmente es el saneamiento basado en las pruebas de intradermotuberculinización. Este método resulta muy caro por la infraestructura humana y material que requiere y, además, es incapaz de llegar a las distintas especies que actúan como reservorio. Desde hace unos años, se está revisando el dogma del saneamiento y se están explorando otras estrategias. La enunciación de la teoría de la inmunidad innata entrenada proporciona un método de intervención epidemiológica que, sin interferir con el diagnóstico inmunológico específico actualmente en uso, puede complementar los métodos de barrera a la transmisión mediante el reforzamiento de las defensas no específicas de los animales susceptibles. Para demostrar la utilidad del producto desarrollado por nuestro grupo para estos fines en condiciones de campo, hemos realizado un ensayo de tratamiento con diferentes productos, vías y dosis en 7 grupos de 20 terneros frisones de un día a los que se ha seguido dos veces en un año mediante pruebas de inmunidad celular y humoral. Los grupos fueron los siguientes: Control sin tratamiento, Control tratado con BCG (bacilo Calmette-Guérin), Control tratado con vacuna comercial de paratuberculosis (CPV), Imprimado con dosis baja por vía oral (HIMBO3), Imprimado con dosis alta por vía oral (HIMBO7), Imprimado con dosis baja por vía parenteral (HIMBPE3), Imprimado con dosis alta por vía parenteral (HIMBPE7). En total se pudo seguir a 109 animales a los 6 meses y a 107 animales a los 12 meses.

Ninguno de los controles, ni de los Imprimados a dosis baja, ni los de dosis alta por vía oral reaccionó en la prueba anocaudal, cervical simple, comparativa o de interferón gamma (IGRA) oficiales. El grupo Imprimado con dosis alta por vía parenteral tuvo un 90 % y un 80 % de positivos en el control de 6 meses y en el de 12 meses en la IGRA, respectivamente. El grupo Imprimado a dosis baja por vía oral tuvo un peso 9,1 % mayor que el control a los 6 meses ( $p=0,0380$ ) y a los 12 meses un 6,5 % ( $p=0,0199$ ). A los 12 meses también el grupo Imprimado a dosis alta por vía parenteral tuvo un peso 7,2 % significativamente mayor que el control ( $p=0,0077$ ).

## P8. Vacunación contra tuberculosis bovina: antecedentes, resultados e implicaciones

Ramón A. Juste<sup>1</sup>, Iker A. Sevilla<sup>1</sup>, Joseba M. Garrido<sup>1</sup>, Esmeralda Minguijón<sup>1</sup>, Christian Gortazar<sup>2</sup>, José de la Fuente<sup>2</sup>, Lucas Dominguez<sup>3</sup>, Patricia Vázquez<sup>1</sup>, Mariví Geijo<sup>1</sup>, Elena Molina<sup>1</sup>, Miriam Serrano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NEIKER-BRTA, Spain<sup>2</sup>

<sup>2</sup>IREC, Spain

<sup>3</sup>VISAVET, Spain

La tuberculosis bovina es una enfermedad causada por miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC), principalmente, *M. bovis*. Tras 100 años de aplicación exclusiva de estrategias de saneamiento no es posible alcanzar la erradicación debido tanto a la limitada sensibilidad de las técnicas de diagnóstico como al carácter multihospedador de la infección. Hemos desarrollado una vacuna inactivada (HIMB) que ha resultado altamente eficaz en jabalí. Para su transferencia a la especie bovina hemos realizado 4 ensayos con desafío experimental con cuatro productos vacunales diferentes (BCG, CPV, HIMBO, HIMBPE) que han requerido una corrección de estandarización para su análisis conjunto. Aplicando un modelo lineal general negativo binomial para los recuentos de carga bacteriana hemos observado que los efectos varían enormemente dependiendo del tejido considerado: pulmón, linfonodo u otros tejidos. Mientras que la HIMB proporciona una reducción de carga bacteriana mayor del 90 % en pulmón, tiene un efecto de incremento en los linfonodos ( $p=0,0130$ ) que también se observa con otras vacunas. Las lesiones macroscópicas solo mostraron una ligera reducción en linfonodos, aunque debido a la gran variabilidad, las diferencias no fueron significativas. Al final del seguimiento, todos los animales vacunados con BCG y HIMBPE (parenteral) fueron positivos en la prueba de la intradermotuberculinización comparativa, pero la vacunación heteróloga con CPV (comercial de paratuberculosis) redujo significativamente la positividad. La vacunación no indujo respuestas positivas en la IGRA (producción de interferón) antes del desafío y pareció retrasar algo la reactividad hacia los 15 dpi. Entre los 30 y los 60 dpi, los vacunados con antígeno MTC tuvieron tasas de positividad similares a la del control y mayores que las del grupo con vacuna heteróloga. El grupo con vacuna inactivada parenteral mantuvo una positividad del 100 % desde los 30 dpi hasta los 150 dpi. La vacunación induciría una latencia epidemiológica con confinamiento del agente en el tejido linfoide. Esto explicaría la eficiencia poblacional recientemente demostrada por Fromsa *et al.* (2024) al atribuir la efectividad vacunal a sus efectos en la principal vía de entrada/salida. A nivel general, este mecanismo implicaría que el control práctico de las infecciones crónicas multihospedador debería cambiar los actuales objetivos de erradicación por los de incremento de las barreras a la difusión. Un uso generalizado de la vacuna contra la tuberculosis tendría el beneficio directo de reducir enormemente los costos del control de ésta, y los indirectos de inducir unos efectos no-específicos en supervivencia como los de la vacunación contra la paratuberculosis (Juste *et al.*, 2022) con la consiguiente reducción del uso de antibióticos y de su inevitable consecuencia de aumento de las resistencias bacterianas.



## P9 Eficiencia en la eliminación bacteriana de amonio y nitrito de diferentes productos comerciales usados en acuicultura marina

Claudia Julián<sup>1</sup>, Begoña Ayo<sup>1,2</sup>, Zuriñe Baña<sup>1,2</sup>, Urtzi Izagirre<sup>2,3</sup>, Oihane Díaz de Cerio<sup>2,3</sup>, Luis Angel Fernández<sup>2,4</sup>, Leire Kortazar<sup>2,4</sup>, Iñigo Azua<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencia y Tecnología (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Microbios marinos. [cjulian001@ikasle.ehu.eus](mailto:cjulian001@ikasle.ehu.eus).

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biología y Biotecnología Marinas Experimentales PiE-UPV/EHU. UPV/EHU).

<sup>3</sup> Facultad de Ciencia y Tecnología (UPV/EHU), Departamento de Zoología y Biología Celular Animal. Cell Biology in Environmental Toxicology + One Health (CBET+)

<sup>4</sup> Facultad de Ciencia y Tecnología (UPV/EHU), Departamento de Química Analítica. Ikerketa eta Berrikuntza Analitiko

La acuicultura marina, y en particular los sistemas de recirculación del agua (RAS, *Recirculating Aquaculture System*), se han convertido en una alternativa sostenible y eficiente al agotamiento de los recursos pesqueros marinos y al impacto ambiental debido a la pesca de captura. Los sistemas RAS son sistemas cerrados de acuareología dirigidos a la producción de peces, con un intercambio de agua limitado y con necesidad de un filtro biológico para eliminar tóxicos de estas aguas. Uno de los principales problemas en la recirculación del agua en estos sistemas es la toxicidad de las altas concentraciones de amonio y nitrito resultantes de la excreción principalmente de urea por las especies cultivadas, restos de organismos muertos, alimento no consumido y/o heces. A día de hoy la mayor parte de los sistemas RAS elimina amonio y nitrito mediante consorcios bacterianos en los biofiltros que llevan a cabo el proceso global de nitrificación, es decir, la oxidación de amonio y nitrito a nitrato. Estos biofiltros necesitan activadores comerciales, y en este trabajo se analiza la eficiencia de nitrificación de siete productos comerciales tanto químicos como biológicos (Fritz Aquatics Zyme 9, Fritz-Zyme Turbo Start 900 Saltwater, Azoo Ultra Bioguard, Seachem Stability, Microbe-Lift Nite-Out II, Bacteria Viva y Fritz A.C.C.R.) utilizados en acuicultura marina. Se analizaron la densidad y viabilidad de las bacterias presentes en estos productos comerciales, y se evaluó la eficiencia de nitrificación de los productos en microcosmos con agua de mar artificial suplementada con diferentes concentraciones de cloruro amónico.

Los resultados indicaron notables diferencias en la eficiencia de nitrificación de los productos comerciales: los productos químicos fueron menos eficientes que los biológicos, y entre éstos últimos se relacionó una mayor eficiencia con la presencia de mayores densidades bacterianas y niveles de viabilidad. Los productos más efectivos fueron Fritz Aquatics Zyme 9 y especialmente Fritz-Zyme Turbo Start 900 Saltwater. En conclusión, la densidad y viabilidad bacteriana son factores determinantes en la eficacia de nitrificación de estos productos comerciales, lo que resalta la importancia de seleccionar productos con comunidades bacterianas robustas y activas, con altos porcentajes en nitrificantes para mejorar la nitrificación en sistemas RAS. Estos resultados obtenidos en el proyecto GVCV23/12 muestran la necesidad de conocer también qué bacterias se encuentran en los productos comerciales.



## P10. Nuevos fagos para el biocontrol de *Listeria monocytogenes* en la industria alimentaria

Amaia Lasagabaster<sup>1</sup>, Elisa Jiménez<sup>1</sup>, María Lavilla<sup>1</sup>, Ainara García<sup>1</sup>, Cristina García<sup>1</sup>, Miguel Romeo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> AZTI, Food Research, Basque Research and Technology Alliance (BRTA). Parque Tecnológico de Bizkaia, Astondo Bidea, Edificio 609, 48160 Derio-Bizkaia. [alasa@azti.es](mailto:alasa@azti.es).

El control de *L. monocytogenes* supone un gran reto para la industria alimentaria y la salud pública, por ser responsable de la listeriosis, una grave enfermedad zoonótica transmitida por alimentos contaminados a través de materias primas o por contaminación cruzada durante su procesado. Es una bacteria muy resistente, capaz de sobrevivir en condiciones adversas de temperatura, acidez y salinidad. Su capacidad de formar biopelículas dificulta su eliminación en instalaciones de procesado, aumentando el riesgo de contaminación. Resulta particularmente crítica su presencia en alimentos listos para el consumo, que se consumen sin cocinado o tratamiento térmico previo. El empleo de bacteriófagos específicos muestra gran potencial para su biocontrol, existiendo actualmente dos productos comerciales: PhageGuard Listex™ y Listshield™.

En este estudio se trabajó con seis nuevos fagos específicos de *Listeria*. Los fagos se clasificaron dentro de la familia *Myoviridae* y género P100-like, mostrando diferencias genéticas entre sí y con otros listeriafagos conocidos. Todos eran fagos virulentos sin genes asociados a lisogenia, producción de toxinas, virulencia bacteriana o resistencia a antibióticos, lo que los hace adecuados para su uso en biocontrol. Además, mostraron gran estabilidad bajo diversas condiciones de pH y temperatura, y un amplio espectro lítico, infectando entre el 84% y 93% de cepas ensayadas, incluyendo *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* y diferentes serotipos de *L. monocytogenes*. La combinación de varios fagos en un cóctel aumentó la susceptibilidad bacteriana a la infección. Entre el 42% y 55% de las cepas de *Listeria* ensayadas fueron altamente susceptibles a la infección por cualquier fago aplicado de modo individual, mientras que hasta el 71% de estas cepas mostraron una alta susceptibilidad al cóctel de fagos. Los ensayos de eficacia realizados en salmón crudo y ahumado contaminados con *L. monocytogenes* (50-100 UFC/g) mostraron que la aplicación del cóctel de fagos a una dosis de  $10^7$  UFC/g reduce la carga de *L. monocytogenes* y evita que se superen las 100 UFC/g al final de la vida útil de estos productos pesqueros. Estos resultados sugieren la potencial aplicabilidad de estos fagos y sus combinaciones como herramienta de seguridad alimentaria específica y natural para el biocontrol de este patógeno en la industria alimentaria.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos SEAFOODTOMORROW (H2020, 773400), FAGOSASUN (Programa Transferencia Tecnológica 2023 de la Diputación Foral de Bizkaia, 6/12/TT/2023/00004) y BIOTEGANIA (PLEC2023-010275 financiado por MCIU/AEI/10.13039/50110 0011033, TransMisiones 2023).

## **SESIÓN 2 SAIOA**

# **Ingurumen-Mikrobiologia Microbiología Ambiental**

## P11. Inhibición de la conjugación bacteriana como medida contra la diseminación de resistencias a antibióticos

Kepa Arbé-Carton<sup>1</sup>, Maider Álvarez-Salazar<sup>1</sup>, Oihane Altube Urkia, Nagore Santos-Fernández, Ana Rey-Sogo<sup>1</sup>, Lide Arana Urbieto<sup>2</sup>, Carlos Garbisu Crespo<sup>3</sup> e Itziar Alkorta Calvo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*

<sup>2</sup>*Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*

<sup>3</sup>*Departamento de Conservación de Recursos Naturales, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio*

El abuso y mal uso de los antibióticos ha conducido a una situación donde los antibióticos disponibles empiezan a ser ineficaces porque las bacterias patógenas adquieren genes de resistencia a antibióticos, convirtiéndose en bacterias multirresistentes a la mayoría de los antibióticos conocidos. La conjugación bacteriana es el principal proceso por el cuál las bacterias adquieren estas resistencias. Sin embargo, es un proceso biológico difícil de estudiar debido a su variabilidad intrínseca y al gran número de variables implicadas. Por ello, en este trabajo presentamos una plataforma de conjugación masiva o “Conjugómica”, que una vez calibrada, permite llevar a cabo ensayos de conjugación de forma masiva. Esta plataforma permite estudiar el efecto de diferentes compuestos o sustancias sobre la frecuencia de conjugación.

Más concretamente, en este trabajo, se ha estudiado el efecto de cuatro compuestos (C1, C3, C4, C5), identificados como potenciales inhibidores de la conjugación mediante ensayos *in silico*, en la frecuencia de conjugación de tres plásmidos representativos (i.e., R388, R1 y pKM101). Además de estos compuestos, se ha utilizado el ácido linoleico como control positivo ya que ha sido descrito como un inhibidor de la conjugación de plásmidos tipo F, como es el caso de los plásmidos R388 y R1 (Fernandez-Lopez *et al.*, 2005).

De los cuatro compuestos estudiados, tres (C3, C4 y C5) han mostrado inhibición de la conjugación para el plásmido R388; en el plásmido R1 todos los compuestos inhiben su conjugación; mientras que para el plásmido pKM101, en ningún caso se ha observado inhibición de la conjugación.

Dada la necesidad de combatir el problema de la diseminación de resistencias en el medio ambiente, estos compuestos se han estudiado en cepas ambientales. En su conjunto, nuestros resultados indican que los compuestos analizados parecen muy buenas herramientas para el control de la diseminación de resistencias a antibióticos.

Este trabajo ha sido subvencionado con los siguientes proyectos: MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (PID2020-116495RB-I00) y Gobierno Vasco (IT1578-22). NS-F y OA han disfrutado una beca Ikasiker (Gobierno Vasco): AR-S tiene una beca de personal investigador en formación de la UPV/EHU.

Fernandez-Lopez, R., Machón, C., Longshaw, C. M., Martin, S., Molin, S., Zechner, E. L., Espinosa, M., Lanka, E. and De La Cruz, F. 2005. Unsaturated fatty acids are inhibitors of bacterial conjugation. *Microbiology*, 151, 3517-3526.

## P12. Efecto de los contaminantes emergentes a concentraciones medioambientalmente relevantes en la transferencia de genes de resistencia a antibióticos

Ana Rey-Sogo<sup>1</sup>, Alice Macchia<sup>1</sup>, Victoria Costa<sup>1</sup>, Naroa Goñi<sup>1</sup>, Hélène Budzinski<sup>2</sup>, Itziar Alkorta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad del País Vasco, Departamento de Bioquímica y Biología molecular. Facultad de Ciencia y Tecnología, Sarriena Auzoa, 48940 Leioa, Biscay. ana.rey@ehu.eus

<sup>2</sup> Universidad de Burdeos, EPOC-LPTC. Talence Cedex.

En la actualidad, el ritmo al que se liberan nuevas sustancias al medio ambiente supera nuestra capacidad de evaluación y control. Esto supone una amenaza importante, ya que se subestima el impacto de los contaminantes en los sistemas biológicos. Por ello, existe una preocupación creciente relacionada con el estrés selectivo que los contaminantes emergentes (CEs) pudieran ejercer sobre las comunidades microbianas, potenciando la transferencia de genes de resistencia (ARGs). Está ampliamente aceptado que los antimicrobianos (antibióticos y desinfectantes) favorecen la transferencia horizontal de ARGs. Además, estudios recientes señalan que otros CEs, *a priori* sin capacidad antimicrobiana, ejercen este mismo efecto. En consecuencia, el repertorio de sustancias que podrían estar potenciando la diseminación de la resistencia a los antibióticos en los ecosistemas bacterianos debería ampliarse y evaluarse cuidadosamente.

Este trabajo establece un protocolo estandarizado para caracterizar el efecto CEs de distintas clases sobre la diseminación de ARGs mediante conjugación bacteriana. Para ello, se empleó una plataforma semi-cuantitativa de conjugación (semi-HTPc) con el fin de establecer un sistema controlado para el estudio de la transferencia de un plásmido conjugativo entre cepas de *Escherichia coli* y el efecto de distintos CEs. Se seleccionaron dos compuestos representativos de cada clase de CEs (i.e., antibióticos, desinfectantes, productos farmacéuticos, pesticidas, productos de cuidado personal y compuestos industriales) y se evaluaron en concentraciones relevantes para el medio ambiente. Paralelamente, estudiamos los mecanismos moleculares subyacentes (i.e., la permeabilidad de la membrana y la respuesta SOS) para desentrañar su implicación en el aumento de la transferencia de plásmidos bajo la exposición a los CEs. Dado el interés de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) por sus altas concentraciones de CEs, se repitió el ensayo utilizando muestras de agua procedentes de dos EDAR como posibles inductoras de la conjugación. Se comprobó que contaminantes con distinta composición química y uso pueden ejercer un incremento en la frecuencia de conjugación. Así mismo, se comprobó cómo el efecto de una muestra real recogida en diferentes estaciones puede inducir la transferencia horizontal de ARGs.

Este trabajo ha sido subvencionado con los siguientes proyectos: MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (PID2020-116495RB-I00) y Gobierno Vasco (IT1578-22). AR-S tiene una beca de personal investigador en formación de la UPV/EHU.

### **P13. Influencia del manejo agrícola y de las características edáficas en el resistoma de los suelos**

Fernando Ruiz Torrubia, Mikel Anza, Aitor Anitua, José Luis Lavín, Carlos Garbisu, Lur Epelde

*NEIKER - Basque Institute for Agricultural Research and Development, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Department of Conservation of Natural Resources, Soil Microbial Ecology Group, Parque Científico y Tecnológico de Bizkaia, P812, 48160 Derio. fruiz@neiker.eus*

La presencia de resistencias a antibióticos (AR) en el medio ambiente, en forma de genes de resistencia (ARGs) o microorganismos resistentes (ARBs), es un fenómeno natural que se ve impactado por la actividad humana. Las tierras arables son ecosistemas fuertemente antropizados en los que la actividad agrícola modifica las comunidades microbianas que las habitan. Existe un interés creciente por entender los factores vinculados a esta actividad que pueden hacer que la AR asociada a estos ecosistemas se convierta en un problema de salud pública.

Hemos llevado a cabo un estudio observacional en el que se han recogido muestras de suelo y vegetal de 76 parcelas agrícolas. El objetivo ha sido estudiar la influencia de (i) el empleo de enmiendas orgánicas de origen animal; (ii) el tipo de agua de riego (utilización de efluentes de aguas residuales u otros); (iii) el uso de determinados biocidas; y (iv) las características fisicoquímicas y biológicas de cada suelo en la abundancia de ARGs, elementos genéticos móviles (MGEs) y ARBs. De las muestras de suelo y vegetación se extrajo DNA para determinar la abundancia de 86 ARGs y 8 MGEs por HTqPCR. Los cambios fenotípicos se evaluaron con la determinación de concentraciones mínimas inhibitorias utilizando ensayos de microdilución. Además, se realizó una amplia caracterización fisicoquímica y biológica (e.g., 16S rRNA metabarcoding) de los suelos.

Nuestros resultados indican que propiedades del suelo, como la textura, tienen una influencia significativa en el resistoma y el moviloma. La presencia de residuos de biocidas como el cobre biodisponible, el cadmio y el glifosato también está positivamente correlacionada con la abundancia de ARGs y MGEs, probablemente debido a mecanismos de co-selección. Afortunadamente, las abundancias de estos genes se reducen en la matriz vegetal.

Estos resultados apoyan la hipótesis de que la actividad agrícola moldea las comunidades microbianas de los suelos y puede alterar las dinámicas de aparición y diseminación de AR en estos suelos. Hemos identificado algunos factores que pueden tener un papel importante en estos procesos, lo que puede ayudar en el diseño de estrategias para mitigar el riesgo del resistoma, mejorando la salud ambiental y humana.

## **P14. Análisis de la unión de posibles inhibidores de la conjugación bacteriana a la proteína acopladora TrwB mediante EMSA y ensayos de digestión con proteinasa K**

Nagore Santos-Fernández<sup>1</sup>, Sonsoles Martín-Santamaría<sup>2</sup>, Elena Gómez-Rubio<sup>2</sup>, Itziar Alkorta<sup>1</sup> and Sofía Ruiz-Cruz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Biochemistry and Molecular Biology Dept, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa.*

<sup>2</sup>*Structural and Chemical Biology Dept, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CIB-CSIC, Madrid*

A pesar del papel de los antibióticos en la medicina moderna, su abuso y mal uso ha llevado a la aparición de bacterias resistentes, siendo la resistencia a los antibióticos (AR) un desafío global para la salud. Las proteínas acopladoras de tipo IV (T4CPs) son esenciales para la conjugación bacteriana, el principal mecanismo que impulsa la propagación de la AR. Por lo tanto, controlar la propagación de la AR mediante la inhibición de las T4CP surge como una estrategia prometedora. En este estudio se investigan las interacciones entre TrwB, la T4CP del plásmido R388, e inhibidores potenciales (previamente identificados por nuestro grupo) mediante ensayos de proteólisis y de retraso de la movilidad electroforética (EMSA).

TrwB $\Delta$ N70, la versión soluble de esta proteína de membrana, fue digerida con proteinasa K en presencia/ausencia de los compuestos para analizar si dichas moléculas inducen un cambio conformacional en la proteína, generando patrones proteolíticos diferentes. Algunos compuestos previnieron o redujeron la degradación de la proteína, lo que indica que podrían ser inhibidores de la conjugación. Mediante EMSA, investigamos si los compuestos previenen que TrwB $\Delta$ N70 se una al ADN. TrwB $\Delta$ N70 fue incubada con el plásmido pUC18 en presencia de los compuestos, seguido de una electroforesis para diferenciar los complejos ADN-proteína del ADN libre. Solo uno de los compuestos estudiados indujo la disociación parcial de los complejos. Estos experimentos son parte de un trabajo con la finalidad de controlar la diseminación de la AR producida por la conjugación bacteriana inhibiendo específicamente una proteína clave en el proceso, la proteína acopladora (T4CP).

Este trabajo ha sido subvencionado con los siguientes proyectos: MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (PID2020-116495RB-I00) y Gobierno Vasco (IT1578-22). NS-F ha disfrutado una beca Ikerbasque (Gobierno Vasco): SR-C disfruta de un contrato postdoctoral HE-MSCA-PF-EF 2022 (101107037).

## **P15. Evaluación del potencial de biorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos procedentes de un vertido de combustible**

Berganza J.<sup>1</sup>, Nafarrate I.<sup>1</sup>, Palladino G.<sup>2,3</sup>, Radaelli E.<sup>2,3</sup>, Turróni S.<sup>2</sup>, Candela M.<sup>2,3</sup> y Brettes P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> GAIKER, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Zamudio, España.

<sup>2</sup> Universidad de Bolonia, Unidad de Ciencia del Microbioma y Biotecnología, Departamento de Farmacia y Biotecnología, Bolonia, Italia.

<sup>3</sup> Centro Marino de Fano, Centro Interinstitucional de Investigación sobre Biodiversidad Marina, Recursos y Biotecnologías, Fano, Italia.

Se evaluó el potencial de biorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos procedentes de un vertido de combustible localizado en Azkoitia. Inicialmente, el suelo fue caracterizado físicoquímica y microbiológicamente. Dentro de la caracterización físicoquímica, se analizaron los hidrocarburos, metales, disolventes clorados, el pH, carbono, nitrógeno y fósforo entre otros, mientras que la microbiológica implicó un recuento de microorganismos aerobios totales y una estimación de microorganismos totales en el suelo con amplificación por PCR de genes 16S rRNA conservados.

Basándose en los datos de la caracterización físicoquímica y microbiológica, se diseñó un ensayo de bioestimulación utilizando diferentes enmiendas (compost, residuos del procesado de la sidra, urea y nitrato amónico) para evaluar la efectividad de cada condición ensayada en la reducción del contenido de hidrocarburos en el suelo. Las condiciones con enmiendas de compost y residuos de sidra mostraron las mayores reducciones en el contenido de hidrocarburos.

Simultáneamente, se aislaron del suelo los microorganismos capaces de utilizar hidrocarburos como única fuente de carbono y energía. Se aislaron 14 cepas con diferentes perfiles bioquímicos que posteriormente se identificaron mediante secuenciación masiva. De las catorce cepas aisladas se seleccionaron siete, en función de su nivel de riesgo biológico y de las evidencias procedentes de revisiones bibliográficas que las asociaban con la capacidad de biodegradar hidrocarburos. Los aislamientos seleccionados pertenecieron a los géneros *Rhodococcus* sp., *Gordonia* sp., *Achromobacter* sp., *Nocardioides* sp., *Pseudarthrobacter* sp. y *Luteibacter* sp..

Por último, y con el objetivo de evaluar su idoneidad para ser utilizadas en una estrategia de bioaumentación aplicable a suelos contaminados con hidrocarburos, se determinó la capacidad de las cepas aisladas para degradar este tipo de contaminantes en cultivos puros y consorcios.



## P16. Búsqueda de marcadores alternativos para mejorar la diferenciación y cuantificación de especies de *Vibrio* en muestras ambientales

Amaia Leunda-Esnaola<sup>1,2</sup>, Evgeni Bunin<sup>2,3</sup>, Pablo Arrufat<sup>4</sup>, Alexandra García Flórez<sup>1</sup>, Peter B. Pearman<sup>4,5,6</sup> & Vladimir R. Kaberdin<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Leioa, España. [amaia.leunda@ehu.eus](mailto:amaia.leunda@ehu.eus), [alexandra.garcia.florez@gmail.com](mailto:alexandra.garcia.florez@gmail.com), [vladimir.kaberdin@ehu.eus](mailto:vladimir.kaberdin@ehu.eus)

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biología y Biotecnología Marinas Experimentales (PIE-UPV/EHU), Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Plentzia, España. [eugbun96@gmail.com](mailto:eugbun96@gmail.com)

<sup>3</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Zoología y Biología Celular Animal. Leioa, España.

<sup>4</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Biología Vegetal y Ecología. Leioa, España. [pablo.arrufat@ehu.eus](mailto:pablo.arrufat@ehu.eus), [peter.pearman@ehu.eus](mailto:peter.pearman@ehu.eus)

<sup>5</sup> IKERBASQUE, Basque Foundation for Sciences. María Diaz de Haro 3, 48013 Bilbao, España.

<sup>6</sup> Basque Center for Climate Change (BC3), Campus científico de la Universidad del País Vasco. Leioa, España.

En estudios recientes se ha demostrado la estrecha relación entre el aumento de la temperatura superficial del agua, presuntamente debido al cambio climático, y el reciente aumento en la incidencia de las enfermedades causadas por *Vibrio*. Esta situación, requiere una monitorización regular de la abundancia y dispersión de estos patógenos marinos.

Aunque el gen ARNr 16S se emplea frecuentemente como marcador filogenético en el análisis de la diversidad microbiana en sistemas acuáticos, en el caso del análisis de ADN ambiental, este marcador no discrimina especies estrechamente relacionadas, incluyendo las de *Vibrio*.

En este trabajo, proponemos un marcador genético alternativo basado en la prolongación del gen ARNr 16S, desde el inicio del ARNr 16S hasta el final de 23S (16S-23S), que permita una mejor diferenciación entre las especies de *Vibrio* en muestras ambientales complejas.

Mediante un primer análisis *in silico*, basado en la construcción de árboles filogenéticos de ARNr 16S, 23S y 16S-23S, hemos demostrado que la inclusión del gen ARNr 23S incrementa el número de bases informativas permitiendo una mejor diferenciación entre las especies de *Vibrio*. Estos resultados han sido validados en el laboratorio empleando muestras ambientales del estuario y la bahía de Plentzia (parte del proyecto de HOBE y BlueAdapt) mediante la amplificación por PCR y secuenciación (empleando Oxford Nanopore Technology, ONT) del gen ARNr 16S y la región 16S-ITS-23S. Aunque la región 16S-ITS-23S nos ha permitido una mayor y más precisa identificación de especies de *Vibrio* en muestras ambientales en comparación al ARNr 16S, los genes ARNr presentan limitaciones en la cuantificación de especies de *Vibrio*. La limitación principal se debe a la gran variabilidad en el número de copias de estos genes en especies de *Vibrio*. Por lo tanto, actualmente, estamos realizando una búsqueda de genes constitutivos de copia única que puedan ser empleados para la precisa cuantificación de vibrios.

## P17. Capacidad productora de antimicrobianos y biosurfactantes por parte de bacterias halófilas y halotolerantes

Maia Azpiazu-Muniozguren<sup>1,2</sup>, Elena Valgañon Pérez<sup>1</sup>, Irati Martinez-Malaxetxebarria<sup>1,2</sup>, Lorena Laorden<sup>1,2</sup>, Ilargi Martínez-Ballesteros<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Grupo 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.

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

Los microorganismos halófilos y halotolerantes representan una importante fuente de productos naturales. Se les atribuye capacidad de producir antimicrobianos, que se caracterizan por ser antimicrobianos altamente selectivos con baja citotoxicidad; además de capacidad para producir biosurfactantes, que son compuestos anfifílicos con diversas propiedades. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue estudiar en 149 aislamientos bacterianos aislados del agua salina de una salina continental (Salinas de Añana, Álava) su capacidad de producir antimicrobianos y/o biosurfactantes. La producción de antimicrobianos se determinó mediante ensayos de antagonismo y de difusión. Por otro lado, la producción de biosurfactantes se comprobó mediante ensayos de emulsión (índice E24) junto con el test *Oil Spreading* (OS) y *Drop Collapse* (DC).

Los ensayos identificaron 20 aislamientos productores de antimicrobianos y 14 productores eficaces de biosurfactantes, que mostraban tanto capacidad de reducir la tensión superficial como de emulsionar. En particular, el aislamiento ASV78 resultó de interés ya que mostró producción de biosurfactantes, con emulsiones estables (EI24 > 40 %) con n-hexano y aceite de oliva, y, antimicrobianos efectivos frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. El análisis de su genoma mediante antiSMASH 6.0, que predice la presencia de clústers de genes biosintéticos (BGC), identificó seis grupos de genes BGCs diferentes. Entre ellos, se observó la capacidad genómica de ASV78 para sintetizar pentabromopseudilina, descrita como un potente antibiótico marino; y la capacidad para producir deferroxamina E, un sideróforo secretado que forma complejos solubles con el hierro aumentando su biodisponibilidad. El resto de los BGCs detectados, al tener una similitud < 45 % con otros BGC conocidos, podrían suponer un potencial del aislamiento para producir posibles moléculas nuevas. En base a los resultados obtenidos, se llevarán a cabo estudios complementarios que continúen con estos hallazgos.

## P18. Análisis de la capacidad de *Magallana gigas* de bioacumular *Vibrio harveyi*. Efecto de la temperatura y de la salinidad

Arkaitz Almaraz<sup>1</sup>, Sofía Miranda<sup>1</sup>, Julen Ansede<sup>1</sup>, Beñat Zaldibar<sup>2,3</sup>, Inés Arana<sup>1,3</sup>, Maite Orruño<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Barrio Sarriena s/n. 48940 Leioa. [maite.orruno@ehu.eus](mailto:maite.orruno@ehu.eus), [arkaitz.almaraz@ehu.eus](mailto:arkaitz.almaraz@ehu.eus).

<sup>2</sup>Departamento de Zoología y Biología Celular Animal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Barrio Sarriena s/n. 48940 Leioa.

<sup>3</sup>Plentziako Itsas Estazioa. Estación Marina de Plentzia (PIE-UPV/EHU). Areatza Hiribidea, 47, 48620 Plentzia.

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. La importancia de *Vibrio* spp. en los ecosistemas acuáticos reside en su papel en el reciclado de nutrientes en la columna de agua y la capacidad patogénica de algunas especies. Algunos vibrios son patógenos para diversas especies de animales, incluido el ser humano.

La ostra del Pacífico, *Magallana (Crassostrea) gigas*, es un organismo filtrador que podría actuar como reservorio de bacterias marinas, como *Vibrio* spp., y contribuir a la diseminación de las vibriosis.

Para determinar la capacidad de colonizar invertebrados marinos, que pueden actuar como reservorios, hemos establecido un sistema utilizando ejemplares de *M. gigas* como hospedadores, y una cepa de *V. 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 con agua de mar o estuarina (salinidad del 33 ‰ y 26 ‰, respectivamente) esterilizada e inoculada con *V. harveyi* gfp, y se incubaron a diferentes temperaturas (12 °C y 20 °C). Periódicamente, los bivalvos se recogieron y diseccionaron para obtener muestras de branquias, gónadas y glándulas digestivas para la cuantificación de *V. harveyi*. Además, se enumeraron las células de *V. harveyi* en el agua circundante y en heces y pseudoheces. Los resultados obtenidos mostraron que *V. harveyi* alcanzó, en pocos minutos, su máxima densidad en los órganos de *M. gigas*, donde se mantuvo tras varios días. Posteriormente, la densidad bacteriana en los órganos disminuyó progresivamente, sin llegar a eliminarse tras 6 días. La densidad de *V. harveyi* en el agua circundante disminuyó, no detectándose bacterias en estado viable no cultivable. La temperatura y la salinidad no influyeron de forma significativa ( $p > 0,05$ ) en el proceso de ingestión y eliminación de *V. harveyi*. La detección, tras 6 días de coincubación, de bacterias cultivables en heces y pseudoheces ( $10^4$ - $10^5$  UFC/g) indica que podrían actuar como reservorio y participar en la diseminación de este microorganismo.

## **P19. La adaptación de *Vibrio harveyi* en el contexto del cambio climático: los efectos de la temperatura, pH y la concentración de sodio cloruro**

Ander, Orus Iturriza<sup>1</sup>, Kaan Gundogdu<sup>1</sup>, Maite Orruño<sup>1,2</sup>, Inés Arana<sup>1,2</sup>, Itxaso Montánchez<sup>1</sup>, Harkaitz Eguiraun<sup>2,3</sup>, Iciar Martínez<sup>2,3,5</sup> y Vladimir Kaberdin<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Immunology, Microbiology and Parasitology, Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country UPV/EHU, 48940 Leioa, Spain;

<sup>2</sup> Research Centre for Experimental Marine Biology and Biotechnology (PIE-UPV/EHU), 48620 Plentzia, Spain;

<sup>3</sup> Department of Graphic Design & Engineering Projects, Faculty of Engineering in Bilbao, University of the Basque Country UPV/EHU, 48013 Bilbao, Bizkaia Spain;

<sup>4</sup> IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Maria Diaz de Haro 3, 48013 Bilbao, Spain;

<sup>5</sup> Department of Zoology and Animal Cell Biology, Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country UPV/EHU, 48940 Leioa, Spain;

Los océanos se están viendo alterados por el cambio climático a nivel global, lo que está derivando en alteraciones de parámetros tan importantes como la temperatura, pH y la salinidad entre otros. Dichos cambios parecen favorecer la expansión en número y geolocalización de los miembros del género *Vibrio*, el género conocido por ser el origen de numerosas enfermedades en organismos marinos e incluso algunas veces en seres humanos. Con el fin de dilucidar los efectos que dichos cambios pueden perpetrar en los miembros de dicho género, en este estudio se han observado algunas de las respuestas fisiológicas de la bacteria marina *Vibrio harveyi* (perteneciente al género *Vibrio*) en diversos escenarios climáticos presentes y futuros. Más concretamente, *Vibrio harveyi* ha sido expuesto a diferentes condiciones donde se han estudiado los efectos de dos parámetros: la concentración de sodio cloruro (5-35 ‰) y el pH (pH 7-8).

En el estudio se han monitorizado el número total de células cultivables además de los cambios morfológicos adoptados por las bacterias. La concentración de sodio cloruro ha resultado ser un parámetro determinante en el bienestar de las bacterias, ya que a reducidas concentraciones tanto la capacidad de crecimiento como el número de células cultivables se han visto reducidas. Por el contrario, el pH no parece haber provocado efectos fisiológicos destacables en las respuestas estudiadas. En el futuro, el estudio se centrará en la identificación de diversos factores de virulencia secretados por varios miembros del género *Vibrio*, además de estudiar el impacto que los diversos parámetros físicos tienen en la regulación de las mismas. Todo ello con la perspectiva de identificar medidas preventivas que pudieran conservar el bienestar del medio marino y la salud humana.

## **P20. Reservorios medioambientales de bacterias resistentes a los antibióticos: un enfoque de “una salud” en el río Butron, Plentzia**

Ronny Zegarra<sup>1</sup>, Ana Luisa Mejía<sup>1</sup>, Ransford Parry<sup>1</sup>, Itziar Alkorta<sup>2</sup>, Lucia Gallego<sup>3</sup>, Sean Connell<sup>4</sup>, Paola Fucini<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación para la Biología Marina Experimental y la Biotecnología, Estación Marina de Plentzia Universidad del País Vasco (PiE-UPV/EHU), Plentzia, España;

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad del País Vasco (UPV-EHU), Leioa, España.

<sup>3</sup> Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería de la Universidad del País Vasco (UPV-EHU), Leioa, España.

<sup>4</sup> Laboratorio de Biología Estructural de Máquinas Celulares, IIS Biobizkaia, Hospital Universitario Cruces, Bilbao, España

<sup>5</sup> IKERBASQUE, Fundación Vasca para la Ciencia, Bilbao, España.

La presencia generalizada de antibióticos y la adaptabilidad microbiana han llevado a la aparición de resistencias antimicrobianas (AMR), considerada una pandemia silenciosa que, se prevé, causará unos 10 millones de muertes anuales para 2050 [1], [2]. En este contexto, el monitoreo ambiental de AMR es clave, aunque carece de estandarización [3], [4]. Este proyecto tiene como objetivo establecer una estrategia de monitoreo para identificar las fuentes y reservorios de bacterias resistentes a los antibióticos (ARB) en el río Butrón y comprender su dinámica utilizando un enfoque de “Una Salud”. El río ha registrado niveles elevados de bacterias fecales que ha causado el cierre de playas cercanas, visitadas por residentes locales y hasta 20.000 turistas en verano [5], [6]. Nuestro enfoque incluye la selección de puntos de muestreo, la extracción de microbiomas y la identificación de ARB mediante pruebas de susceptibilidad (AST). Así, se seleccionaron puntos antes y después de la EDAR del Butrón; un punto en la presa de Arbina; una sección cerca del estuario con floración de algas verdes; y la playa de Plentzia. Los microbiomas de agua, sedimentos, arena y algas verdes se usaron para los AST en medio de orientación Chromagar para detectar ARB a ampicilina, doxiciclina, y sulfametoxazol-trimetoprima. Los resultados mostraron que las muestras del río contenían más ARB que las del estuario, en línea con los niveles de salinidad y la influencia de las EDAR [7], [8]. Los sedimentos fueron principales depósitos de ARB, seguidos de las algas y el agua, confirmando a las algas verdes como potenciales huéspedes de ARB [9], [10]. Estos hallazgos ofrecen una primera evaluación de las ARB cultivables y sugieren el refinamiento del método de extracción para una mayor recuperación del microbioma ambiental. Futuras investigaciones deberán vigilar la dinámica estacional para evaluar los efectos ambientales.

Este trabajo fue financiado por: MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (PID2020-116495RB-I00) y Gobierno Vasco (IT1578-22); PERSIST (PID2021-122705OB-I00); y One Health Observatory Lighthouse (HOBE) en la Bahía de Plentzia (TED2021-132109B-C21) MINECO y la Unión Europea. RZ y RP son becarios de personal investigador en formación de la UPV/EHU.

**Enlace a referencias:** [rebrand.ly/erARBplentzia](https://rebrand.ly/erARBplentzia)

## P21. Bioprospección de bacterias y hongos marinos aislados en aguas superficiales costeras y estuarinas del Golfo de Bizkaia

Amaia Hernandez<sup>1</sup>, Amaia Zarrabeitia<sup>1</sup>, Zuriñe Baña<sup>1,2</sup>, Itxaso Artolozaga<sup>1</sup>, Begoña Ayo<sup>1,2</sup>, Iñigo Azua<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencia y Tecnología. 48940. Leioa, País Vasco, España.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biología y Biotecnología Marinas Experimentales PiE-UPV/EHU. 48620. Plentzia, País Vasco, España.

ahernandez161@ikasle.ehu.eus

Debido a las condiciones especiales del mar (pH, salinidad, temperatura, presión, oligotrofia, etc.), los microorganismos marinos han desarrollado capacidades metabólicas y fisiológicas únicas, que les convierte en importantes herramientas en el campo de la biotecnología azul. El aumento de patógenos resistentes a antimicrobianos, de la contaminación marina (por ejemplo, los plásticos) y de las necesidades industriales, hace indispensable la búsqueda de nuevos antimicrobianos y enzimas con interés biotecnológico o capacidad de biorremediación. Así, el descubrimiento de enzimas y compuestos antimicrobianos de interés comercial producidos por microorganismos marinos ha aumentado en los últimos años con la exploración de la biodiversidad marina. El grupo de investigación Microbios Marinos (UPV/EHU) cuenta con una amplia colección de bacterias y hongos marinos aislados de aguas superficiales costeras y estuarinas del mar Cantábrico oriental durante diferentes épocas del año y ha empezado a caracterizar y analizar su potencial biotecnológico.

Algunas de estas bacterias (principalmente especies de los géneros *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas* y *Kocuria*) y hongos (*Aureobasidium*, *Sarocladium* y *Penicillium*) producen gran variedad de enzimas de interés industrial como, caseinasas, enzimas lignolíticas, amilasas y lipasas, y/o con alta capacidad de biorremediación como lacasas, y poliesterasas. Además, se han identificado bacterias (principalmente especies de los géneros *Flavobacterium*, *Pseudoalteromonas*, *Bacillus* y *Glutamicibacter*) productoras de antimicrobianos frente a bacterias (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Enterococcus faecalis*) y hongos (*Aspergillus fumigatus*, *Candida auris*, *Lomentospora prolificans* y *Scedosporium boydii*) de relevancia clínica. Es imprescindible continuar realizando esfuerzos para aislar bacterias y hongos marinos y caracterizar las enzimas y compuestos con interés biotecnológico o farmacéutico que producen.



## P22. Tras el patógeno en los granulocitomas de mejillones del Atlántico Norte

Denis Benito<sup>1,2</sup>, Naroa Ontivero<sup>1</sup>, Urtzi Izagirre<sup>1,2</sup>, Manu Soto<sup>1,2</sup>, Oihane Diaz de Cerio<sup>1,2</sup>, Zurine Baña<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Estación Marina de Plentzia, PiE-UPV/EHU. Areatza Pasealekua z/g., Plentzia 48620, Spain.

[Denis.benito@ehu.eus](mailto:Denis.benito@ehu.eus)

<sup>2</sup> Grupo BCTA+OH, Dept. de Zoología y Biología Celular Animal. FCT-ZTF. UPV/EHU, Barrio Sarriena S/N, Leioa, 48940, Bizkaia. [Oihane.diazdecerio@ehu.eus](mailto:Oihane.diazdecerio@ehu.eus).

<sup>3</sup> Grupo Microbios Marinos, Depart. de Inmunología, Microbiología y Parasitología. FCT-ZTF. UPV/EHU, Barrio Sarriena S/N, Leioa, 48940, Bizkaia. [Zurine.bana@ehu.eus](mailto:Zurine.bana@ehu.eus)

Los granulocitomas son acumulaciones de granulocitos que se observan mayoritariamente en tejido conectivo de órganos afectados por algún estrés. Esta respuesta inmune en mejillones es muy común en localidades altamente contaminadas, y frecuentemente va ligada a acumulaciones de lipofuscinas las cuales le da una coloración ocre a la zona. En la última campaña de muestreo del Atlántico Norte (proyecto GRACE), se observó gran prevalencia de estas acumulaciones en el tejido conectivo de las glándulas digestivas de mejillón azul (*Mytilus edulis*), especialmente en muestras recogidas en Escocia y Alemania. En la última década se han registrado eventos de mortalidad masiva de mejillón en las costas del Atlántico Norte, principalmente en Francia y Reino Unido. Aquí, este hecho se ha relacionado con la presencia del microorganismo *Francisella haliotica*, una bacteria patógena Gram negativa, con forma cocoide y sin movilidad. Además, ha sido localizada en los granulocitomas de los mejillones en declive. Es por ello, que debido a la alta prevalencia de granulocitomas observada en los mejillones de la última campaña, la hipótesis es que *F. haliotica* puede estar presente y ser la antesala a un evento de mortalidad masiva de estas poblaciones de bivalvos. Para ello, el estudio ha contado con muestras de mejillones de Escocia y Alemania, positivos en granulocitomas, en los que se espera co-localizar, identificar y aislar a *F. haliotica*, por medio de técnicas histológicas, moleculares y cultivos microbiológicos. Los resultados moleculares obtenidos a partir del análisis de las glándulas digestivas demuestran la presencia del patógeno sólo en el 25% de las muestras de Escocia, sin embargo, no se ha podido identificar positivo alguno en las muestras de Alemania aun siendo estas localidades más sensibles a la contaminación. Seguidamente, y con el objetivo de aislar sólo la sección afectada, se microdisecionaron granulocitomas, pero no se detectó *F. haliotica* en ninguna muestra (PCR y cultivos específicos). Sin embargo, en cultivos de agar marino de glándulas digestivas de mejillón pudo observarse (colony PCR) que el género con mayor prevalencia en las muestras de ambos lugares era *Bacillus* sp., seguido de *Pseudomonas* sp. en Alemania y *Staphylococcus* sp. en Escocia, indicando posibles patógenos nuevos como fuente de las acumulaciones de granulocitos. Este trabajo, no ha demostrado que *Francisella haliotica* sea el patógeno causante de la acumulación de granulocitomas en estas áreas, por lo que este efecto puede ser producido por algún otro agente.

**Agradecimientos:** Proyecto Europeo GRACE (Nº 679266) y al Gobierno Vasco por el grupo consolidado BCTA+OH (IT810-13).



## P23. Diversidad y caracterización de la microbiota aislada de sedimentos de estuarios de la costa vasca: Análisis del potencial biotecnológico

Ziortza Agirrezabala<sup>1</sup>, Ainara Otamendi<sup>1</sup>, Carla Perez-Cruz<sup>2</sup>, Raquel Liébana<sup>2</sup>, Laura Alonso-Sáez<sup>2</sup>, Maria Teresa Dueñas<sup>1</sup>, Anders Lanzén<sup>3,4</sup>, Sajeet Haridas<sup>5</sup>, Rosa López<sup>6</sup>, Oier Etxebeste<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología, Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), 20018 San Sebastian. [ziortza.agirrezabala@ehu.eus](mailto:ziortza.agirrezabala@ehu.eus)

<sup>2</sup>AZTI, Marine Research, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Sukarrieta.

<sup>3</sup>AZTI, Marine Research, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Pasaia.

<sup>4</sup>IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao.

<sup>5</sup>Department of Energy Joint Genome Institute, Walnut Creek, USA

<sup>6</sup>Departamento de Química Orgánica I, Facultad de Química, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), 20018 San Sebastian

Los entornos marinos albergan una vasta diversidad de microorganismos que juegan un papel crucial en el equilibrio ecológico, los ciclos biogeoquímicos y las cadenas alimentarias. Estos microorganismos han desarrollado diversas estrategias para adaptarse a condiciones extremas como la temperatura, presión, iluminación, altas concentraciones de sal, escasez de nutrientes o la necesidad de degradar sustratos poliméricos difíciles de descomponer. Por lo tanto, los microorganismos marinos son considerados una fuente valiosa de nuevos productos biotecnológicos, como pigmentos, enzimas halo-/termoestables, compuestos bioactivos y antibióticos. Sin embargo, la investigación en este campo se ha enfocado principalmente en las bacterias, y son pocos los grupos que se dedican al estudio de los hongos marinos, lo que deja un terreno aún por explorar.

Este trabajo se ha centrado en el aislamiento y caracterización de hongos marinos cultivables a partir de muestras recogidas a lo largo de la costa vasca. La caracterización fenotípica de los aislados condujo a la identificación de cepas potencialmente capaces de crecer en un medio de cultivo mínimo suplementado con polisacáridos provenientes de algas o de producir metabolitos secundarios. Así, se seleccionaron dos cepas pertenecientes al orden Hypocreales para la secuenciación y análisis de sus genomas (tecnologías Illumina y Nanopore): 1) *Marquandomyces marquandii* por su capacidad para secretar al medio de cultivo un pigmento amarillo descrito en la literatura como un sorbicilinoide de urea y 2) *Albophoma yamanashiensis* por su aparente capacidad para crecer en un medio de cultivo mínimo suplementado con fucoidan comercial. El análisis y la comparación de las predicciones de CAZymes y clusters génicos de metabolitos secundarios con los de otras especies del orden Hypocreales, en combinación con resultados de RNA-seq y proteómica, sugieren que estos aislados podrían utilizarse como fuente de nuevas actividades enzimáticas y metabolitos secundarios. Se presentarán, asimismo, resultados preliminares que sugieren una actividad fungistática/antifúngica de *Marquandomyces marquandii*, a la vez que se correlacionarán los resultados de RNA-seq con resultados de metabolómica de ambas cepas.

## **P24. Los estuarios vascos muestran comunidades microbianas y redes de asociación diferentes dependiendo del nivel de su contaminación**

Leire Garate<sup>1</sup>, Anthony Chariton<sup>2</sup>, Anders Lanzén<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> AZTI, Biotecnología y Ecología Molecular. Herrera Kaia, Portualdea z/g  
20110 Pasaia - Gipuzkoa. lgarate@azti.es

<sup>2</sup> The Environmental (e)DNA and Biomonitoring Lab, School of Natural Sciences, Wallumattagal  
(North Ryde) Campus, Macquarie University, Darug Nation, NSW 2113, Australia.  
anthony.chariton@mq.edu.au

<sup>3</sup> IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, Bizkaia, Spain. alanzén@azti.es

Los ecosistemas estuarinos son claves en el funcionamiento global de los ecosistemas, así como para las actividades y bienestar de la humanidad, dado que millones de personas dependen de los recursos que ofrecen, como la pesca, transporte de mercancías o actividades recreativas. Esto hace que estos ecosistemas se vean expuestos a una alta presión antropogénica, por lo que es imprescindible que conozcamos su funcionamiento para poder monitorear y regular mejor dicha presión. El objetivo principal de este estudio se basa en comparar las comunidades microbianas y sus redes de asociación de seis estuarios del País Vasco que están sometidos a diferentes niveles de contaminación. Para ello, se recogen muestras de ADN medioambiental a lo largo de una serie temporal, se estudia la composición microbiana procariótica, y se reconstruyen sus redes de asociación con el fin de comparar sus propiedades e identificar los taxones más importantes en la comunidad (basado en número de conexiones como valores de centralidad).

Los resultados muestran que las comunidades microbianas menos impactadas son más estables a lo largo de la serie temporal, mientras que las comunidades microbéticas de sitios con mayor presión demuestran cambios temporales elevados. Las redes de asociación señalan los taxones que tienen papeles más relevantes para la estabilidad de la comunidad y las redes de interacciones. Dichos taxones “keystones” (claves) o “conectores” incluían taxones con abundancias relativamente bajas. Las propiedades topológicas de las redes también cambian según el nivel de impacto. Por ejemplo, el número de taxones y las conexiones que establecen entre ellos son mayores en los estuarios menos impactados, especialmente las conexiones negativas que pueden indicar competición o interacciones tróficas. Por el contrario, la modularidad es mayor en los más impactados.

## P25. Impacto antrópico en la microbiota apícola: repercusiones para la subsistencia y salud de *Apis mellifera*

June Gorrochategui-Ortega<sup>1</sup>, Marta Muñoz-Colmenero<sup>2</sup>, Egoitz Galartza<sup>1,3</sup>, Andone Estonba<sup>1</sup>, Iratxe Zarraonaindia<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>UPV/EHU, Dpto. de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias y Tecnología. Edificio María-Goyri, Leioa. [june.gorrochategui@ehu.eus](mailto:june.gorrochategui@ehu.eus), [andone.estonba@ehu.eus](mailto:andone.estonba@ehu.eus), [iratxe.zarraonaindia@ehu.eus](mailto:iratxe.zarraonaindia@ehu.eus)

<sup>2</sup>UCM, Dpto. de Genética, Fisiología y Microbiología. Madrid. [a.martam.colmenero@gmail.com](mailto:a.martam.colmenero@gmail.com)

<sup>3</sup>ERBEL, Erle Beltz Hazleen Elkartea. Zaldibia. [erbelelkartea@gmail.com](mailto:erbelelkartea@gmail.com)

<sup>4</sup>IKERBASQUE, Basque Foundation for Science. Bilbao.

La abeja melífera se enfrenta a estresores tales como el ácaro *Varroa destructor* y la antropización ambiental, los cuales perjudican a su microbiota intestinal y, por ende, su salud. Además, las comunidades presentes en otras secciones de la colmena pueden afectar a la salud apícola indirectamente, al alterar el interior de la colmena. Por ello, los microbios asociados a la abeja y su colmena, cuyo conjunto hemos denominado “apibioma”, sirven para evaluar el bienestar de la colonia. Además, identificar marcadores de estrés microbiano ayudaría a diagnosticar colonias vulnerables o resilientes. Utilizando técnicas de metabarcoding, hemos analizado el impacto de distintos factores sobre la estructura y plasticidad de dicho apibioma.

En un primer estudio, evaluamos el efecto del acaricida orgánico más utilizado en España contra la varroa, el ácido oxálico (AO), en apiarios bajo distintos grados de antropización. Los resultados sugieren que, aunque su efecto varía entre apiarios, en colonias más antropizadas el AO puede reducir la abundancia de oportunistas y de patógenos tales como *Nosema ceranae*. En un segundo estudio realizamos una monitorización longitudinal de la microbiota de colmenas situadas en áreas con diferente nivel de antropización. Además, trasladamos colonias de una zona agrícola a una seminatural o natural, para evaluar la capacidad de recuperación del apibioma, desde un estado disbiótico a uno equilibrado. Descubrimos que la disbiosis agrícola, caracterizada por un enriquecimiento de bacterias oportunistas y funciones asociadas a respuestas de estrés, disminuye rápidamente, evidenciando la plasticidad taxonómica y funcional de la microbiota. También comparamos la microbiota intestinal de colonias tolerantes a la varroa con colonias de origen comercial, ambas situadas en el mismo ambiente natural. Los resultados confirmaron rasgos de tolerancia en las no-comerciales, y corroboraron la rápida respuesta de la microbiota al medio. Sin embargo, observamos que la diversidad microbiana y el comportamiento de la abeja no se modulaban con la misma rapidez. Además, encontramos diferencias en la dinámica temporal de diversos microbios entre las abejas tolerantes y no tolerantes. En resumen, estos hallazgos destacan el papel de la microbiota en la resiliencia de las colonias, y su capacidad de respuesta ante cambios ambientales y tratamientos, abriendo nuevas perspectivas para el desarrollo de prácticas apícolas más sostenibles y eficientes.

## P26. Identificación de compuestos antimicrobianos presentes en el secretoma de *Marinomonas mediterranea*

Olatz Sainz<sup>1</sup>, Zuriñe Baña<sup>1,2</sup>, Itxaso Artolozaga<sup>1</sup>, Begoña Ayo<sup>1,2</sup>, Maddi Salvoch<sup>2,3</sup>, Nestor Etxebarria<sup>2,3</sup>, Iñigo Azua<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencia y Tecnología. 48940. Leioa, País Vasco, España. [osainz009@ikasle.ehu.eus](mailto:osainz009@ikasle.ehu.eus)

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biología y Biotecnología Marinas Experimentales PiE-UPV/EHU. 48620. Plentzia, País Vasco, España.

<sup>3</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencia y Tecnología. 48940. Leioa, País Vasco, España.

La creciente resistencia de las bacterias y hongos a los compuestos antimicrobianos está disminuyendo la eficacia de los tratamientos contra infecciones, lo que incrementa la mortalidad y exige la búsqueda de nuevos antimicrobianos. El mar, con su alta diversidad de microorganismos adaptados a condiciones adversas, constituye una fuente prometedora de diferentes compuestos bioactivos. El objetivo principal de este trabajo fue caracterizar e identificar la capacidad antimicrobiana de los compuestos presentes en el secretoma de *Marinomonas mediterranea* CECT 4803T frente a diez microorganismos de relevancia clínica: seis bacterias (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) y cuatro hongos (*Candida auris*, *Scedosporium boydii*, *Lomentospora prolificans*, *Aspergillus fumigatus*). Para ello, en primer lugar, se identificaron las condiciones óptimas para mejorar la detección de la capacidad antimicrobiana, y después se analizó la actividad antimicrobiana de estos compuestos específicos frente a las bacterias y hongos indicados.

Los resultados mostraron que el secretoma de *M. mediterranea* cultivada en el medio de cultivo Caldo Marino, que contiene peptona y extracto de levadura, mostraba mayor actividad antimicrobiana que el secretoma de la bacteria cultivada en medio de cultivo mínimo, lo que sugiere la importancia de la presencia de inductores como los aminoácidos en su producción. El secretoma de *M. mediterranea* en Caldo Marino mostró actividad antibacteriana frente a todas las bacterias patógenas analizadas, siendo superior frente a las Gram positivas que frente a las Gram negativas. Sorprendentemente, mostró también actividad antifúngica frente a *Scedosporium boydii* y *Lomentospora prolificans*. El análisis del secretoma indicó que las enzimas lisina y glicina oxidasas fueron las responsables de la inhibición del crecimiento bacteriano y fúngico mediante la generación de peróxido de hidrógeno. Además, se identificó una tercera proteína, valil-ARNt sintetasa, con posible capacidad antimicrobiana. Estos hallazgos subrayan la importancia de la bioprospección bacteriana marina con el fin de avanzar en el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos.

## **SESIÓN 3 SAIOA**

**Oinarrizko Mikrobiologia eta  
Mikrobiologia Biomedikoa  
Microbiología Básica y Biomédica**

## P27. Influencia de la interacción genética-microbiota en un modelo murino de la enfermedad de Lyme

Eneko Santos-Fernandez<sup>1</sup>, Sarai Araujo-Aris<sup>1</sup>, Itziar Martín-Ruiz<sup>1</sup>, Iratxe Seoane<sup>1,2</sup>, Naiara Gutiez<sup>1</sup>, Aize Pellón<sup>1</sup>, Ainize Peña-Cearra<sup>1,2</sup>, Leticia Abecia<sup>1,2</sup>, Héctor Rodríguez<sup>2</sup>, Juan Anguita<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Inflammation and Macrophage Plasticity lab, CIC bioGUNE-BRTA (Basque Research and Technology Alliance), Parque Científico Tecnológico de Bizkaia building 801A, 48160 Derio*

<sup>2</sup> *Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería, Barrio Sarriena s/n. 48940 Leioa.*

<sup>3</sup> *Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbao*

**Introducción.** La enfermedad de Lyme es transmitida por garrapatas del género *Ixodes*, siendo el agente causal de esta las espiroquetas del género *Borrelia*, principalmente *Borrelia burgdorferi*. Se estiman cada año 476.000 casos de la enfermedad en Estados Unidos y más de 200.000 en Europa. Tras la infección y diseminación de la bacteria, aparecen manifestaciones clínicas como artritis, carditis y complicaciones neurológicas, que sin tratamiento adecuado darán lugar a formas persistentes de la enfermedad, que suelen caracterizarse por una infección prolongada de la espiroqueta. Diferentes investigaciones apuntan a que la interacción entre factores genéticos y microbiota tiene una clara importancia en el desarrollo y la prognosis de diferentes enfermedades infecciosas. Datos preliminares de nuestro laboratorio muestran que ratones C57BL/6J y C3H/HeJ, presentan distinta microbiota, destacando la ausencia de *Akkermansia* y un incremento de la abundancia de *Prevotella* en los C3H. *Prevotella* y *Akkermansia*, taxones con abundancias diferenciales en humanos entre la población sana y los pacientes en distintos síndromes con un componente inflamatorio, actúan como inmunomoduladores, aumentando y disminuyendo la inflamación, respectivamente de acuerdo con estudios previamente publicados.

**Objetivos.** Estudiar la microbiota presente en ratones C57BL/6J y C3H/HeJ, definiendo las respuestas inmunes dispare y explorando los microorganismos capaces de modular la inmunidad entrenada.

**Resultados y Discusión:** Los resultados obtenidos muestran una mayor infiltración de macrófagos en el corazón de los ratones C3H/HeJ infectados con Bb respecto a los ratones B6, lo que estaría indicando mayor carditis en esos ratones. Además, los macrófagos de la médula ósea de estos ratones presentan respuestas inflamatorias más bajas comparadas con los C57BL/6J. Estas respuestas inmunes diferenciales entre las cepas podrían estar relacionadas con la diferente composición de su microbiota, ya que hemos detectado una microbiota diferente y similar a la observada en los datos preliminares obtenidos en nuestro laboratorio, volviendo a destacar por su abundancia diferencial taxones como *Akkermansia* y *Prevotella*. Habiendo descrito el papel de la microbiota en la enfermedad de Lyme el siguiente paso sería confirmar su papel utilizando un modelo de ratones convivientes que intercambian microbiota, explorar los metabolitos microbianos capaces de afectar a la prognosis de la enfermedad, además de determinar si esta microbiota está genéticamente predefinida.

**Conclusiones:** Los ratones C57BL/6J y C3H/HeJ presentan una microbiota dispar que determina la prognosis de la enfermedad de Lyme.

## P28. Estudio estructural y de ensamblaje celular de dos bacteriófagos noveles Phi48:2 and Phi18:4

Irati Lacunza<sup>1</sup>, Ane Martinez-Castillo<sup>1</sup>, Elina Laanto<sup>3</sup>, Karin Holmfeldt<sup>4</sup> Irini Assimakopoulou<sup>2</sup>, Veera Salminen<sup>2</sup>, Annalisa Guerri<sup>5</sup>, Hanna M Okasanen<sup>2</sup>, Nicola G A Abrescia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cic-bioGUNE, Structure and Cell Biology of Viruses Lab. Bizkaia Science & Technology Park bld 801 A 48160 Derio, Bizkaia. [ilacunza@cicbiogune.es](mailto:ilacunza@cicbiogune.es)

<sup>2</sup> University of Helsinki. PL 56 (Viikinkaari 9), Room B6215 HELSINGIN YLIOPISTO Finland. [hanna.oksanen@helsinki.fi](mailto:hanna.oksanen@helsinki.fi)

<sup>3</sup> Department of Biological and Environmental Science and Nanoscience Center, University of Jyväskylä, Jyväskylä, Finland. [elina.laanto@jyu.fi](mailto:elina.laanto@jyu.fi)

<sup>4</sup> Centre for Ecology and Evolution in Microbial Model Systems (EEMiS), Department of Biology and Environmental Science, Linnaeus University, Kalmar, Sweden. [karin.holmfeldt@lnu.se](mailto:karin.holmfeldt@lnu.se)

<sup>5</sup> Department of Chemistry "Ugo Schiff", University of Florence.

Los virus han impactado en la biosfera de innumerables formas y ocasiones desde el comienzo de la vida. Además, la interminable variedad existente a nivel evolutivo, genético, estructural y taxonómico de estos organismos emana en que su estudio quede muy restringido a familias virales más comunes, como por ejemplo aquellos virus cuyo material genético contiene doble hebra de ADN (ds-DNA).

En este proyecto se resuelven dos bacteriófagos, phi48:2 y phi18:4 a aproximadamente 3,5 Å de resolución mediante microscopía crio-electrónica (*cryo-EM*). Estos fagos, contienen doble membrana lipídica (icosaédrica, pero con un alto grado de esfericidad) que envuelve al genoma de una única hebra de ADN (ss-DNA). Todo ello, queda encapsulado bajo una cápside icosaédrica que se sustenta mediante unas proteínas estructurales que hacen de *spacer* entre la cápside y la membrana.

A nivel de secuencia de proteína (MCP), ambos fagos comparten un porcentaje de similitud bajo (18%), al igual que ocurre con otros virus de la familia anteriormente descritos (14% con FLiP). No obstante, a nivel estructural, como se ha podido observar, la proteína principal de cápside (MCP) es común en todos ellos, con un *fold* muy característico, descrito como *double jelly roll*. Además, comparten la misma organización de cápside (*pseudo T=21 dextro*), consecuencia de pertenecer a un mismo linaje estructural (PRD1-like).

Por todo ello, concluimos que la estructura de la cápside de estos fagos se ha mantenido en el tiempo por un proceso de supervivencia a pesar de que la evolución a nivel secuencial haya tenido la tendencia a que cada vez sean más dispares.



## **P29. Inhibición de la conjugación bacteriana aplicando nanopartículas lipídicas sólidas catiónicas**

Oihane Altube Urkia<sup>1</sup>, Itziar Alkorta Calvo<sup>1</sup> y Lide Arana Urbietta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*

<sup>2</sup>*Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*

La resistencia a los antimicrobianos amenaza la salud mundial al hacer que los antibióticos existentes sean ineficaces contra los patógenos resistentes. El principal mecanismo de propagación de los genes de resistencia a los antibióticos entre las bacterias es la conjugación mediada por plásmidos. Inhibir las proteínas conjugativas, en particular la proteína acopladora (T4CP), es una estrategia viable para mitigar esta propagación. Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) ofrecen una opción atractiva para mejorar la eficacia y el transporte de inhibidores de la conjugación.

Este estudio se centró en la encapsulación de ácido linoleico, un conocido inhibidor de la conjugación, y un compuesto que previamente nuestro grupo identificó como un inhibidor de la conjugación bacteriana. Se desarrollaron cuatro tipos de nanopartículas: SLN vacías, SLN con el compuesto, SLN con ácido linoleico pero sin el compuesto, y SLN con ácido linoleico y el compuesto. La caracterización de estas nanopartículas consistió en medir el tamaño, la polidispersidad y el potencial zeta mediante dispersión dinámica de la luz (DLS) y determinar la eficacia de la encapsulación mediante espectrofotometría. Los estudios de toxicidad y conjugación evaluaron el impacto de las SLN en las células bacterianas mediante un método de alto rendimiento.

Los resultados indicaron que los SLNs permanecieron estables hasta dos meses a 4°C. Los SLN que contenían ácido linoleico, así como los que contenían tanto ácido linoleico como el compuesto, redujeron significativamente la transmisión del plásmido, lo que indica una notable inhibición de la conjugación. Este trabajo pone de relieve el potencial de las SLN como estrategia prometedora para combatir la resistencia a los antibióticos. Futuras investigaciones podrían explorar la optimización de estas formulaciones en diversas cepas y entornos bacterianos.

Este trabajo ha sido subvencionado con los siguientes proyectos: MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (PID2020-116495RB-I00) y Gobierno Vasco (IT1578-22). OA han disfrutado una beca Ikasiker (Gobierno Vasco).

### **P30. Análisis de la maquinaria de transporte nuclear en respuesta a estrés**

María Delgado-Izquierdo<sup>1,2</sup>, Francisco José Rodríguez-Garrido<sup>1,2</sup>, Raúl Escribano<sup>1,2</sup>, Javier Fernandez-Martinez<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Instituto Biofisika (UPV/EHU, CSIC), University of the Basque Country, 48940, Leioa, Spain.

<sup>2</sup> Fundación Biofísica Bizkaia, Barrio Sarriena s/n, 48940, Leioa, Spain.

<sup>3</sup> Ikerbasque, Basque Foundation for Science, 48013, Bilbao, Spain.

Cuando una célula se enfrenta a una situación de estrés se inicia una respuesta de supervivencia en la que la expresión genética, el tráfico de mRNA y la traducción deben regularse y coordinarse rápidamente para garantizar una adaptación adecuada. Un paso clave en esta vía de respuesta es el intercambio de macromoléculas entre el núcleo y el citoplasma, un proceso regulado por el complejo de poro nuclear (NPC). Se sabe que, en respuesta al estrés, ciertas vías de transporte nuclear de proteínas y mRNA se modifican, pero todavía no tenemos una imagen completa de cuántas vías están realmente afectadas y cuáles son los cambios moleculares subyacentes que ocurren en el NPC y su interactoma durante este proceso.

Planeamos abordar esta cuestión a través de un análisis exhaustivo de las modificaciones en la composición, el interactoma y la arquitectura del NPC que ocurren durante la respuesta al estrés térmico en el microorganismo *Saccharomyces cerevisiae*. Esperamos aprender cómo esas modificaciones de los componentes de NPC, las vías de transporte nucleo-citoplasmático y el proteoma asociado conducen a resultados funcionales alternativos en el principal centro de comunicación del núcleo.

## **P31. Caracterización del complejo del poro nuclear durante la entrada en quiescencia**

Francisco José Rodríguez-Garrido<sup>1,2</sup>, María Delgado-Izquierdo<sup>1,2</sup>, Raúl Escribano<sup>1,2</sup>, Javier Fernandez-Martinez<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Instituto Biofisika(UPV/EHU, CSIC), University of the Basque Country, 48940, Leioa, Spain.

<sup>2</sup> Fundación Biofísica Bizkaia, Barrio Sarriena s/n, 48940, Leioa, Spain.

<sup>3</sup> Ikesbasque Basque Foundation for Science, 48013, Bilbao, Spain.

Para sobrevivir durante periodos en los que la falta de nutrientes o condiciones adversas no permiten la progresión normal del ciclo celular, las células son capaces de entrar en un estado reversible de parada de la proliferación que se denomina quiescencia. Durante la transición entre proliferación y quiescencia se producen cambios dramáticos en la fisiología celular que implican una reorganización de sus vías de comunicación. Una de las principales vías de comunicación es el complejo del poro nuclear (NPC), un gigantesco complejo de proteínas que media el transporte de macromoléculas entre el núcleo y el citoplasma. El NPC es además una plataforma clave para la regulación genómica y post-transcripcional. Nuestra hipótesis es que, durante la entrada en quiescencia, el NPC y la maquinaria de transporte asociada son remodeladas para acomodar los nuevos requerimientos de tráfico núcleo-citoplasmático y de regulación post-transcripcional.

Nuestros resultados preliminares confirman cambios en la composición e interactoma del NPC en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, así como distintas poblaciones de células en las que se produce un evidente remodelado de distintas vías de transporte nuclear, mediante cambios en la localización sub-celular de los factores de transporte que las regulan.

## P32. Análisis del efecto de los amiloides de la microbiota sobre la permeabilidad de la barrera intestinal y hematoencefálica

Ainara Aginaga<sup>1</sup>, Miriam Serrano<sup>1</sup>, Alejandro Toledo-Arana<sup>1</sup>, Macarena Sanchez<sup>2</sup>, Jaione Valle<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Agrobiotecnología (IdAB). Biología Molecular de Patógenos Bacterianos. CSIC-Gobierno de Navarra, Mutilva, España. [ainara.aginaga@csic.es](mailto:ainara.aginaga@csic.es)

<sup>2</sup> Instituto de Parasitología y Biomedicina "López - Neyra", Granada, España.

El eje intestino-cerebro es una vía bidireccional de comunicación entre el tracto gastrointestinal y el sistema nervioso central. El desequilibrio de la microbiota intestinal puede afectar a la función de la barrera intestinal y hematoencefálica permitiendo el paso de subproductos derivados de la microbiota al sistema nervioso central y ejercer ahí diferentes efectos. El descubrimiento de amiloides bacterianos en la microbiota intestinal, incluida la proteína Esp de ciertas cepas de *Enterococcus*, ha despertado interés por su posible conexión con enfermedades neurodegenerativas. Nuestro grupo ha demostrado que los amiloides Esp de *Enterococcus faecalis* inducen la agregación de la proteína amiloide humana  $\alpha$ -sinucleína, asociada al Parkinson. Además, la abundancia de Esp en el microbioma intestinal está correlacionada con la incidencia de la enfermedad de Parkinson.

En este estudio, planteamos si los amiloides Esp de *Enterococcus faecalis* tienen un efecto sobre la permeabilidad intestinal y hematoencefálica. Empleando modelos celulares de barrera intestinal basados en células Caco-2 cultivadas en placas Transwell, así como de barrera hematoencefálica con células endoteliales cerebrales, hemos determinado que los amiloides bacterianos inducen cambios en la integridad de las barreras celulares. Las imágenes de inmunofluorescencia de las proteínas zonulina-1, claudina y ocludina, así como el ensayo de FICT dextrano indicaron roturas de las uniones intercelulares de células tratadas *in vitro* con prefibrillas de Esp. Asimismo, los niveles de expresión de estas proteínas disminuyeron en aquellas células tratadas con Esp.

Estos hallazgos indican que los amiloides Esp pueden afectar a la integridad de las barreras intestinal y hematoencefálica, facilitando su propagación y la de sustancias nocivas hacia el cerebro, contribuyendo a la neurodegeneración. Estos resultados enfatizan la importancia de entender la conexión entre la microbiota intestinal y la salud neurológica, y sugieren que los amiloides bacterianos podrían ser un objetivo terapéutico en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

### **P33. Estudio del efecto del amiloide Esp de *Enterococcus faecalis* sobre la microbiota fecal**

Miriam Serrano<sup>1</sup>, Ainara Aginaga<sup>1</sup> y Jaione Valle<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Agrobiotecnología (IDAB). Biología Molecular de Patógenos Bacterianos. CSIC-Gobierno de Navarra. Avenida Pamplona 123. Mutilva-31192, Spain. miriam.serrano@csic.es

La microbiota del tracto gastrointestinal contiene el mayor reservorio de microorganismos y constituye el biofilm más abundante del cuerpo humano. Las proteínas amiloides son componentes estructurales de la matriz extracelular del biofilm y su estructura proporciona resistencia frente a condiciones adversas. Los amiloides funcionales intervienen en una gran variedad de procesos, como el andamiaje estructural de la matriz del biofilm y la señalización celular. Sin embargo, las funciones biológicas de los amiloides que componen el biofilm de las bacterias entéricas aún se desconocen.

En este trabajo postulamos que la presencia de amiloides patógenos puede modular la fisiología del consorcio de bacterias intestinales induciendo cambios en la composición bacteriana o promoviendo la agregación de amiloides entre especies.

Para analizar esta hipótesis, se llevaron a cabo ensayos de colonización intestinal en ratones con amiloides de origen bacteriano (Esp de *Enterococcus faecalis*). Posteriormente se analizó el efecto de los amiloides Esp sobre la composición de la microbiota fecal de los animales mediante secuenciación del gen 16S rRNA. Los resultados obtenidos mostraron que la colonización intestinal con amiloides Esp provocaba cambios en la composición de la microbiota. La abundancia relativa de las bacterias en la categorización de filo y género mostró diferencias estadísticamente significativas. La abundancia relativa de los Bacteroidetes a nivel de filo, así como de *Bacteroides* y *Enterococcus* a nivel de género, fueron significativamente menos abundantes en los ratones tratados con amiloides. Por lo contrario, las abundancias relativas de *Archaea*, así como de *Anaerocolumna*, *Archaea* no clasificadas y *Cyanobacterales* experimentaron un aumento estadísticamente significativo en aquellos ratones tratados con amiloides frente a los no tratados.

Este ensayo se completó de manera *in vitro* con el análisis del efecto de agregación cruzada de amiloides Esp sobre proteínas solubles de origen bacteriano. Los resultados mostraron que la interacción de prefibrillas amiloides Esp con proteínas en su fase soluble aumenta el grado de agregación de las mismas o bien favorece su permanencia en estado soluble.

Podemos concluir que la proteína amiloide Esp de *E. faecalis* tiene un efecto sobre la fisiología del consorcio de bacterias intestinales, afectando a la composición de la microbiota fecal, así como a la formación de fibras amiloides de otras proteínas de origen bacteriano presentes en la microbiota fecal.

### P34. Estudio de la eferocitosis inducida por micobacterias *in vitro*

Rakel Arrazuria<sup>1</sup>, Maitane Mugica<sup>1</sup>, Gwendal Vidal<sup>1,2</sup>, Maddi Oyanguren<sup>1</sup>, Ainara Badiola<sup>1</sup>, Natalia Elguezabal<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>NEIKER-BRTA, Departamento de Sanidad Animal. Berreaga kalea 1, 48160 Derio, Bizkaia.

[nelguezabal@neiker.eus](mailto:nelguezabal@neiker.eus)

<sup>2</sup>Polytech Clermont, Campus Universitaire des Cézeaux. 2, avenue Blaise-Pascal TSA 60206, 63178 Aubière Cedex, France.

Los neutrófilos (PMNs) son las primeras células inmunitarias que llegan al lugar de la infección e intentan eliminar patógenos mediante mecanismos como la fagocitosis, la desgranulación, la generación de especies de oxígeno reactivas o la liberación de trampas extracelulares (NETs). Tras desplegar estos mecanismos antimicrobianos los PMNs liberan señales para la atracción de otros tipos celulares y suelen entrar en apoptosis. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) es el agente etiológico causante de la paratuberculosis (PTB), una enteritis granulomatosa que afecta sobre todo a rumiantes pero que también se ha vinculado con la Enfermedad de Crohn en humanos. Una vez dentro del organismo, Map es fagocitado por los macrófagos donde inhibe el proceso de maduración del fagolisosoma y consigue replicarse. El papel de los PMNs en la PTB está poco estudiado, aunque se ha reportado que las vacas enfermas de PTB tienen alteradas las rutas en las que están implicados los PMNs. En las lesiones granulomatosas del intestino de los animales infectados predominan los macrófagos mientras que los PMNs están prácticamente ausentes. Se sabe que, en diversas infecciones, los macrófagos fagocitan los PMNs apoptóticos en un proceso denominado eferocitosis, conduciendo a la eliminación de los restos celulares, aprovechando los gránulos de los PMNs para acabar de matar al patógeno y resolviendo la inflamación. En estudios previos *ex vivo*, hemos observado que los PMNs bovinos liberan NETs frente a Map y son más efectivos que los macrófagos matando esta micobacteria. En este trabajo se ha profundizado en estos mecanismos y en la cooperación entre ambos tipos celulares frente a micobacterias poniendo a punto un protocolo para estudiar la eferocitosis *in vitro* mediante la tecnología de imágenes Incucyte SX1® (Sartorius). En los ensayos, se ha utilizado sangre periférica de vacas sanas para aislar PMNs y monocitos que después se han diferenciado a macrófagos (MDMs). Para optimizar la técnica se han probado diferentes condiciones para la tinción y concentraciones de los PMNs y los MDMs. La concentración óptima para la tinción con pH Rodo Labeling Dye® es 0,25 mg/mL para 2E6 PMNs/ml y el buffer de tinción proporcionado por el fabricante no era. El número de células adecuado para estudiar la interacción es de 3x10<sup>5</sup> PMNs y 1E5 MDMs por pocillo en placa de 96. Se han testado las multiplicidades de infección (MOI) de 5 y 10 de Map, observándose una mayor respuesta cuando se emplea una MOI más elevada. El tiempo para estudiar la eferocitosis podría extenderse hasta las 10 horas, tras las cuales los valores se mantienen estables. Una vez establecidas las condiciones, se ha llevado a cabo un ensayo con células aisladas de tres animales infectando con Map e incluyendo BCG (una micobacteria atenuada). Para una misma MOI, la BCG muestra valores ligeramente inferiores a los observados en el caso de Map, lo cual es coherente atendiendo a la patogenicidad bacteriana. Los resultados obtenidos indican que en las condiciones descritas es posible estudiar la eferocitosis inducida por micobacterias con la tecnología Incucyte®.

### **P35. La disfunción mitocondrial provoca cambios en la microbiota y un fenotipo más severo en cáncer colorrectal en ratones**

Naiara Gutiez<sup>1</sup>, Iratxe Seoane<sup>1,2</sup>, Itziar Martín-Ruiz<sup>1</sup>, Eneko Santos<sup>1</sup>, Sarai Araujo<sup>1</sup>, Ainize Peña-Cearra<sup>1,2</sup>, Aize Pellón<sup>1</sup>, Leticia Abecia<sup>1,2</sup>, Héctor Rodríguez<sup>1</sup>, Juan Anguita<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Inflammation and Macrophage Plasticity Lab, CIC bioGUNE, Derio, España.*

<sup>2</sup> *Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco, UPV/EHU, Leioa, España.*

<sup>3</sup> *Ikerbasque Foundation for Science, Bilbao, Vizcaya.*

El gen MCJ (Methylation-controlled J protein) es un modulador negativo del complejo I de la cadena transportadora de electrones (CTE) de la mitocondria. Su deficiencia provoca una remodelación en el funcionamiento de la CTE, la cual se ha relacionado con una disminución de la eficacia de la quimioterapia en cáncer de mama, pero también con un aumento de la inmunogenicidad tumoral en melanoma. Además, nuestro laboratorio ha estudiado el papel de la deficiencia de MCJ en un modelo murino de colitis ulcerosa (CU), que provoca un fenotipo más agresivo de la enfermedad. En particular, se ha observado que la microbiota basal de los ratones deficientes en MCJ es diferente a la de ratones control, y se ha demostrado que esta microbiota diferencial es responsable del efecto de la deficiencia de MCJ en la severidad de la CU.

Siendo la CU un factor de riesgo para el desarrollo del cáncer colorrectal (CCR), nuestro objetivo fue estudiar el efecto de la deficiencia de MCJ y su microbiota asociada en el CCR. Para ello, se utilizó un modelo murino de CCR con origen inflamatorio, induciendo la carcinogénesis con azoximetano y sulfato de dextrano de sodio (AOM/DSS). Este modelo experimental se llevó a cabo en una cepa de ratón con deficiencia del gen MCJ y en un grupo control. En comparación con el grupo control, los ratones con deficiencia de MCJ sufrieron síntomas más severos de la enfermedad, caracterizados por una disminución de peso más acentuada y lesiones más graves en el colon, evidenciadas en forma de diarrea y sangre en heces. Además, en el último día del periodo experimental se pudo observar que los ratones deficientes en MCJ mostraron una cantidad significativamente mayor de tumores en colon y recto. En cuanto al tamaño, ambos grupos mostraron la misma cantidad de tumores pequeños (1 cm), pero los ratones deficientes en MCJ mostraron más tumores de gran tamaño ( $\geq 2$  cm). Profundizando en el origen del fenotipo de los mutantes, hemos comprobado que los macrófagos aislados de la médula ósea de ratones con deficiencia en MCJ no muestran una respuesta exacerbada frente a distintos estímulos bacterianos inflamatorios. Los siguientes pasos se centrarán en una caracterización más extensa de los diferentes factores que podrían repercutir en la severidad de la enfermedad observada en el mutante, así como en establecer el posible papel de la microbiota mediante experimentos de transferencia fecal y en ratones convivientes.

En resumen, la deficiencia del gen MCJ tiene un claro impacto negativo en el desarrollo del cáncer colorrectal, provocando un fenotipo más severo de la enfermedad.



### **P36. Construcción y caracterización de pIMM24, el primer vector lanzadera *Escherichia coli* – *Arcobacter butzleri***

Adrián Salazar-Sánchez<sup>1,2</sup>, Rodrigo Alonso<sup>1,2</sup>, Aurora Fernández-Astorga<sup>1</sup>, Ilargi Martínez-Ballesteros<sup>1,2</sup>, Lorena Laorden<sup>1,2</sup>, Irati Martínez-Malaxetxebarria<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Grupo de investigación Mikrolker, Facultad de Farmacia, Paseo de la Universidad 7, 01002, Vitoria-Gasteiz.

<sup>2</sup>Bioaraba, Microbiología, Enfermedades infecciosas, Antimicrobianos y Terapia génica, HUA Txagorritxu, Calle José Antxotegi s/n, 01009 Vitoria-Gasteiz.

**Introducción y objetivos.** *Arcobacter butzleri* es un patógeno humano causante de diarreas acuosas y enteritis. Está presente en numerosos ambientes, produciéndose su transmisión principalmente por consumo de alimentos y aguas contaminadas. Hasta la fecha, para comprender los mecanismos de patogenicidad de esta especie se han llevado a cabo la inactivación de diferentes genes mediante la utilización de vectores suicidas y tecnología CRISPR-cpf1 pero, debido a la ausencia de herramientas para hacerlo, no ha sido posible la complementación, y por consiguiente la restauración de la función, de ninguno de estos. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue construir y caracterizar un vector lanzadera capaz de replicarse y expresarse tanto en *Escherichia coli* como en *A. butzleri*.

**Resultados y discusión.** El vector lanzadera pIMM24 se construyó mediante clonación basada en enzimas de restricción. En primer lugar, se insertó en el vector pMW2 el origen de replicación de *A. butzleri* procedente del plásmido críptico pABRW13 y posteriormente se sustituyó el marcador de resistencia a kanamicina por un cassette de resistencia a tetraciclina originario de una cepa resistente de *Campylobacter jejuni*. La secuencia genética del vector (7.425 pb) se verificó mediante secuenciación utilizando tecnología Illumina y ONT, y se encuentra disponible en GenBank con el número de acceso PP129559. La eficiencia de transformación del plásmido es de  $4.572 \pm 2.351$  UFC/ $\mu$ g vector en *E. coli* y de  $32 \pm 7$  UFC/ $\mu$ g vector en *A. butzleri*. Sin presión antibiótica, pIMM24 se mantiene estable al 100% en *E. coli* tras 7 días, mientras que en *A. butzleri* tiene una estabilidad de 65-75% entre los días 1 y 5. Los mutantes transformados con pIMM24 exhibieron un aumento de 4 y 96 veces la MIC de tetraciclina de las cepas salvajes de *A. butzleri* y *E. coli*, respectivamente. No se observaron diferencias significativas entre el crecimiento de las cepas salvajes y mutadas con pIMM24. El vector lanzadera se utilizó de manera satisfactoria para restablecer la movilidad de un mutante de *A. butzleri* con el gen *fliS* previamente inactivado.

**Conclusiones.** En este trabajo se presenta el primer vector lanzadera *E. coli* – *A. butzleri*, una herramienta útil para estudios de complementación que contribuyan al aumento del conocimiento de esta especie.

**Financiación.** Este trabajo se ha financiado gracias a los proyectos AGL2014-56179-P (Ministerio español de economía y competitividad) y GIU21/021 (UPV/EHU). A.S.-S. es beneficiario de una beca predoctoral de la UPV/EHU.

### **P37. Estabilidad funcional de la tetraciclina: información práctica para su uso en selección bacteriana**

Adrián Salazar-Sánchez, Ilargi Martínez-Ballesteros, Lorena Laorden, Rodrigo Alonso, [Irati Martínez-Malaxetxebarria](#)

*Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Grupo de investigación Mikrolker, Facultad de Farmacia, Paseo de la Universidad 7, 01002 Vitoria-Gasteiz.*

*Bioaraba, Microbiología, Enfermedades infecciosas, Antimicrobianos y Terapia génica, HUA Txagorritxu, Calle José Antxotegi s/n, 01009 Vitoria-Gasteiz.*

**Introducción y objetivos.** La manipulación genética bacteriana se ha convertido en una metodología habitual en muchos laboratorios para diversos fines. Los genes o casetes de resistencia a los antibióticos se utilizan con frecuencia como marcadores. La tetraciclina es un antibiótico comúnmente utilizado con este fin, aunque su escasa estabilidad requiere una preparación *in situ* cada vez que se utiliza. En este trabajo, comprobamos la estabilidad funcional de la tetraciclina cuando se almacena a 4°C para su uso en experimentos de modificación genética.

**Resultados y discusión.** Se comenzó preparando una solución madre de clorhidrato de tetraciclina (15 mg/mL) y se utilizó para suplementar varias placas de agar infusión cerebro corazón (BHI), que luego se almacenaron a 4 °C hasta su uso. En diferentes días, se cultivaron en caldo y agar BHI suplementado con tetraciclina (15 µg/mL) cepas salvajes sensibles y mutantes resistentes a tetraciclina de *Escherichia coli* y *Arcobacter butzleri*. Todas las cepas resistentes a la tetraciclina fueron capaces de crecer en ambas condiciones durante al menos 175 días tras la preparación del antibiótico, mientras que las cepas sensibles permanecieron inhibidas. También se determinó la CMI de todas las cepas. La CMI de las cepas salvajes fue de 0,25 y 8 µg/mL para *E. coli* y *A. butzleri* respectivamente; y la de las cepas resistentes de 24 y 32 µg/mL.

**Conclusiones.** Tanto el medio suplementado con tetraciclina (15 µg/mL) como la solución madre mantienen una potencia superior a 8 µg/mL durante al menos 175 días tras su preparación cuando se almacenan a 4 °C. Esto facilita el uso de este antibiótico en experimentos de modificación genética sin necesidad de su preparación *in situ*.

**Financiación.** Este trabajo se ha financiado gracias al proyecto GIU21/021 (UPV/EHU). A.S.-S. es beneficiario de una beca predoctoral de la UPV/EHU.

### P38. Primeros avances en la caracterización de la composición del biofilm de *Arcobacter butzleri*

Adrián Salazar-Sánchez<sup>1,2</sup>, Leire Abad-Zubia<sup>1</sup>, Lorena Laorden<sup>1,2</sup>, Rodrigo Alonso<sup>1,2</sup>, Ilargi Martínez-Ballesteros<sup>1,2</sup>, Irati Martínez-Malaxetxebarria<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Dpto de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Grupo de investigación Mikrolker, Facultad de Farmacia, Paseo de la Universidad 7, 01002 Vitoria-Gasteiz.

<sup>2</sup>Bioaraba, Microbiología, Enfermedades infecciosas, Antimicrobianos y Terapia génica, HUA Txagorritxu, Calle José Antxotegi s/n, 01009 Vitoria-Gasteiz.

**Introducción y objetivos.** Su amplia distribución y transmisión vía alimentos y aguas contaminadas posicionan a *Arcobacter butzleri* como un patógeno de interés, causante en humanos de diarreas acuosas y enteritis. Entre sus mecanismos patogénicos, su capacidad para formar biofilms facilita su propagación a lo largo de la cadena alimentaria. Sin embargo, actualmente se desconoce la composición de las mismas, siendo el objetivo de este trabajo avanzar en su caracterización, contribuyendo así al aumento del conocimiento de esta especie y facilitando su control en el futuro.

**Resultados y discusión.** En este trabajo se utilizaron dos cepas diferentes de *A. butzleri*, ambas con una producción de biofilm parecida: RM4018 ( $1,79 \pm 0,28$  mg/100 mL caldo) y P8 ( $1,81 \pm 0,48$  mg/100 mL caldo). De este biofilm se cuantificaron carbohidratos (método del 2-fenoxietanol), proteínas (BCA y Bradford), ácidos nucleicos (Nanodrop 2000) y lípidos (sulfo-fosfo-vainillina). Las cantidades obtenidas para las cepas RM4018 y P8 fueron, respectivamente:  $0,01 \pm 0,01$  % y  $0,01 \pm 0,01$  %;  $5,25 \pm 3,44$  % y  $4,79 \pm 1,99$  %;  $2,11 \pm 0,60$  % y  $2,53 \pm 0,98$  %; y  $<0,02$  % y  $<0,02$  %. Adicionalmente se realizó un análisis de cada extracto mediante FTIR, de cuyo espectro se pudo extraer la presencia de grupos nitrogenados. Esto podría explicar las bajas cuantificaciones de carbohidratos con el método empleado. Actualmente no se dispone aún de los resultados de GC/MS y HPLC, por lo que no se ha podido corroborar la anterior hipótesis.

**Conclusiones.** Aparentemente, el biofilm de *A. butzleri* está compuesto en su mayor parte por polisacáridos, con una presencia limitada de proteínas y ácidos nucleicos y prácticamente ningún lípido. Aún es necesario analizar las muestras mediante GC/MS y HPLC para confirmar esta conclusión de manera inequívoca.

**Financiación.** Este trabajo se ha financiado gracias al proyecto GIU21/021 (UPV/EHU). A.S.-S. es beneficiario de una beca predoctoral de la UPV/EHU.

### **P39. Nanopartículas lipídicas sólidas como estrategia terapéutica frente a las infecciones por *Candida* spp.**

Ianire Mate<sup>1</sup>, June Miner<sup>1</sup>, Katherine Miranda-Cadena<sup>1</sup>, Uxue Ibisate<sup>2</sup>, Elena Eraso<sup>1</sup>, Itziar Alkorta<sup>3</sup>, Ane Bordagaray<sup>2</sup>, Lide Arana<sup>2</sup>, Andrea Guridi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Inmunología y Parasitología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa. [andrea.guridi@ehu.eus](mailto:andrea.guridi@ehu.eus)

<sup>2</sup>Departamento de Química Aplicada, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Donostia. [lido.arana@ehu.eus](mailto:lido.arana@ehu.eus)

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa. [itzi.alkorta@ehu.eus](mailto:itzi.alkorta@ehu.eus)

La candidiasis es la micosis oportunista más frecuente. La OMS ha clasificado varias especies de *Candida* como patógenos de prioridad alta e incluso crítica debido a la creciente aparición de aislamientos resistentes frente a los fármacos antifúngicos. Estos, además, poseen inconvenientes como la toxicidad y la biodisponibilidad, lo que limita su uso, y los tratamientos de larga duración pueden dar lugar a la aparición de cepas resistentes a los mismos.

Los sistemas de transporte de fármacos ofrecen una alternativa terapéutica al servir como vehículos de administración de fármacos que mejoran su eficacia, reducen la dosis terapéutica necesaria y minimizan la toxicidad. En concreto, las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) destacan por ser una opción muy atractiva debido a sus numerosas ventajas, como la administración no tóxica y selectiva de fármacos. Las SLN cargadas con fármacos antifúngicos podrían ser una alternativa eficaz contra las cepas de *Candida* resistentes.

El citral, un monoterpeno compuesto por neral y geranial, presenta una serie de actividades biológicas, como propiedades antibacterianas, antifúngicas, antibiopelícula y antiparasitarias. Sin embargo, presenta una baja solubilidad en agua que dificulta su administración sistémica.

Por todo ello, el objetivo de este trabajo fue la incorporación de diferentes cantidades de citral en SLN catiónicos, la caracterización de las suspensiones obtenidas, y analizar su eficacia antifúngica frente a distintas especies de *Candida*.

Los resultados indicaron que las suspensiones de SLN obtenidas presentan buenas características como sistemas de transporte de citral y no mostraron toxicidad en el modelo animal *Galleria mellonella*. Las SLN vacías mostraron actividad antifúngica en algunas cepas estudiadas. Además, la incorporación del citral en las SLN mostró un incremento de la actividad antifúngica en el 50 % de los casos. Por ello, en futuros trabajos habrá que determinar la concentración óptima de citral. El presente trabajo destaca el potencial del citral incorporado en SLN como estrategia prometedora para combatir la resistencia antimicrobiana.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (PID2020-116495RB-I00) y por el Gobierno Vasco (proyectos IT1578-22 e IT1607-22).

## P40. Evaluación del péptido complejo 3P-KLH como estrategia inmunoprotectora frente a la infección sistémica por *Candida albicans* en un modelo murino

Ander Diez<sup>1</sup>, Ines Arrieta-Aguirre<sup>2</sup>, Giulia Carrano<sup>1</sup>, Iñigo Fernandez-de-Larrinoa<sup>3</sup>, Maria-Dolores Moragues<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad del País Vasco UPV/EHU, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Leioa, España. [ander.diez@ehu.eus](mailto:ander.diez@ehu.eus)

<sup>2</sup>Universidad del País Vasco UPV/EHU, Departamento de Enfermería I, Leioa, España

<sup>3</sup>Universidad del País Vasco UPV/EHU, Departamento de Química Aplicada, San Sebastián, España.

**Introducción:** *Candida albicans* es un hongo patógeno responsable de infecciones tanto superficiales como sistémicas en humanos, representando un riesgo considerable en individuos inmunocomprometidos. La candidiasis sistémica es la cuarta infección nosocomial hematológica más común, lo que subraya la necesidad de estrategias preventivas eficaces. La vacunación ha emergido como una opción prometedora, y en este contexto, las vacunas dirigidas contra antígenos específicos de la pared celular de *C. albicans* han mostrado resultados alentadores en la protección frente a la candidiasis invasiva. **Objetivo:** Este estudio se centró en evaluar la capacidad inmunoprotectora de un péptido complejo conjugado con KLH (*Keyhole Limpet Hemocyanin*, hemocianina de *Megathura crenulata*), denominado 3P-KLH. **Materiales y Métodos:** 3P-KLH contiene epítomos de tres antígenos de la pared celular de los tubos germinales de *C. albicans*, Als3 (*Agglutinin-Like Sequence 3*), Hwp1 (*Hyphal Wall Protein 1*) y Met6 (*Methionine Synthase 6*), y su eficacia fue probada en un modelo murino de candidiasis hematógicamente inducida. Se emplearon 11 ratones Balb/c para evaluar el nivel de protección midiendo tanto la carga fúngica como la supervivencia a la infección.

**Resultados:** Los ratones vacunados desarrollaron una respuesta de anticuerpos específica y robusta y una carga fúngica casi 30 veces menor en los riñones en comparación con el grupo control. Además, el estudio reveló que el 37,5 % de los ratones inmunizados sobrevivieron 21 días después de la infección, mientras que la supervivencia media de los animales del grupo control fue de 6 días, muriendo todos ellos dentro de los primeros 9 días. **Conclusiones:** Estos hallazgos sugieren que el complejo 3P-KLH, dirigido a estos tres antígenos de *C. albicans*, desencadena una respuesta inmune protectora en modelo murino y reduce de manera significativa la gravedad de las infecciones sistémicas por *C. albicans*. Asimismo, el estudio destacó que los epítomos seleccionados presentan una alta afinidad de unión con los alelos del MHC II (*Major Histocompatibility Complex II*, complejo mayor de histocompatibilidad clase II), lo que refuerza la probabilidad de que este péptido sea altamente inmunogénico en humanos. En conjunto, esta investigación proporciona valiosos conocimientos que podrían guiar el desarrollo de nuevas estrategias inmunoterapéuticas contra la candidiasis invasiva, abriendo nuevas vías para mejorar los resultados clínicos en esta grave condición.

## P41. Efecto de las bacterias magnetotácticas como agentes de hipertermia magnética en modelos 3D de carcinoma pulmonar

Alaine Urrutia<sup>1</sup>, Alicia G. Gubieda<sup>2</sup>, Lucía Gandarias<sup>1,2</sup>, Danny Villanueva<sup>3</sup>, M. Luisa Fdez-Gubieda<sup>3</sup>, Ana García-Prieto<sup>4</sup>, Ana Abad-Díaz-de-Cerio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, 48940 Leioa, España.

<sup>2</sup> Aix-Marseille Université, Bioscience and Biotechnology Institute of Aix-Marseille (BIAM), cnrs, cea-umr 7265, 13108 Saint-Paul-les-Durance, Francia

<sup>3</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Electricidad y Electrónica, 48940 Leioa, España.

<sup>4</sup> Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Física Aplicada, 48013 Bilbao, España.

Actualmente, las nanopartículas magnéticas (MNP) se utilizan en diferentes ensayos clínicos en aplicaciones biomédicas tales como el tratamiento de hipertermia magnética. Sin embargo, las bacterias magnetotácticas podrían ser un mejor enfoque para este tratamiento del cáncer, ya que pueden nadar y penetrar en el tejido tumoral, se pueden funcionalizar con fármacos antitumorales y pueden ser guiadas o rastreadas dentro del cuerpo humano. Además, la disposición en cadena de sus magnetosomas proporciona una mayor eficiencia de calentamiento, lo que podría implicar la disminución de la dosis de MNP para lograr el mismo efecto. Asimismo, los cultivos tridimensionales permiten simular el entorno tumoral *in vivo* por características como las interacciones celulares estrechas, gradientes de oxígeno y nutrientes, y cambios en el metabolismo celular [1-4].

Para probar la eficacia de las bacterias magnetotácticas *in vitro* en el tratamiento de hipertermia magnética en tumores, se incubaron diferentes concentraciones de la bacteria *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 con un modelo tridimensional de células de carcinoma pulmonar (A549), y se sometieron a hipertermia magnética. La viabilidad celular se midió mediante un ensayo enzimático. El estudio del crecimiento bacteriano y la síntesis de magnetosomas en condiciones fisiológicas se realizó mediante espectrofotometría y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Por otra parte, se analizó la capacidad de penetración bacteriana mediante criotomía y microscopía de fluorescencia.

En conclusión, a densidades bacterianas no tóxicas para las células, se logró una disminución de la viabilidad celular del 10% bajo las condiciones estudiadas. Además, las bacterias fueron capaces de penetrar parcialmente el esferoide, y en condiciones estudiadas, su viabilidad y la síntesis de magnetosomas disminuyó.

### Referencias

- [1] M. L. Fdez-Gubieda *et al.* *Journal of Applied Physics*, 128(7), 070902 (2020)
- [2] T. Gwisai *et al.* *Science Robotics*. 7(71) (2022)
- [3] A. S. Nunes *et al.* *Biotechnology and bioengineering*, 116(1), 206-226 (2019)
- [4] D. Gandia *et al.* *Small* 15, 1902626 (2019)



## P42. Caracterización de aislamientos de *Saprochaete*. Diagnóstico diferencial y resistencia a antifúngicos

Víctor Ordóñez<sup>1</sup>, Leyre Mónica López-Soria<sup>2</sup>, Giulia Carrano<sup>1</sup>, Ander Díez<sup>1</sup>, Inés Arrieta-Aguirre<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UPV/EHU, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Campus Leioa-B. Sarriena s/n.

<sup>2</sup> Hospital Universitario de Cruces. Servicio de Microbiología. Barakaldo

<sup>3</sup> UPV/EHU, Departamento Enfermería I. Campus Leioa-B. Sarriena s/n. ines.arrieta@ehu.eus

**Introducción:** en las últimas décadas ha ocurrido un incremento significativo de las infecciones fúngicas en humanos debido a los avances médico quirúrgicos que han permitido la supervivencia de pacientes vulnerables. Los géneros *Candida* y *Aspergillus* ocupan los primeros lugares como causa de fungemia nosocomial, sin embargo, hay un número creciente de distintos géneros fúngicos que, aprovechando las condiciones de inmunosupresión de los pacientes, causan infecciones menos comunes, pero con una alta tasa de mortalidad. Entre ellos destaca el género *Saprochaete*, el cual puede causar micosis invasoras en pacientes oncohematológicos y, además, presenta una sensibilidad reducida a equinocandinas y a azoles. Dentro de este género destacan dos especies, *Saprochaete capitata* y *Saprochaete clavata*, que a menudo se identifican de manera errónea debido a su gran similitud. Uno de los **objetivos** de este trabajo consistió en la identificación de aislamientos procedentes del H.U. de Cruces y catalogados como *S. capitata* o, en algunos casos, como *Saprochaete* spp. Se diseñaron varios ensayos de PCR para identificar de manera específica ambas especies. Asimismo, se caracterizó la resistencia de los mismos a distintos antifúngicos y se secuenció la región *Hot Spot 1* del gen *FKS*, relacionado con la resistencia a equinocandinas. **Resultados y discusión:** tras observar el crecimiento en agar cromogénico ORICHrom, el 85 % de los aislamientos fúngicos se catalogaron como *S. clavata* y el 15 % como *S. capitata*. Por otro lado, aunque sólo uno de los cebadores fue capaz de amplificar de manera específica la especie de *Saprochaete*, la identificación molecular confirmó los resultados obtenidos con el medio cromogénico. Esta nueva distribución de ambas especies, con una mayor presencia de *S. clavata*, se parece más a la descrita por otros autores en países del centro de Europa. Por otro lado, las CMI fueron elevadas para algunos compuestos azólicos y todas las equinocandinas, siendo el antifúngico más activo la anfotericina B. Las CMI<sub>50</sub> calculadas por especie mostraron que *S. capitata* poseía mayores valores para isavuconazol, posaconazol, itraconazol y voriconazol que *S. clavata*. Finalmente, todos los aislamientos resultaron ser portadores de la sustitución de citosina por timina en la primera base de la región *Hot Spot 1* de *FKS*, la cual está relacionada con la resistencia intrínseca de género a las equinocandinas. **Conclusiones:** La mayoría de aislamientos del H.U. de Cruces, identificados anteriormente como *S. capitata*, fueron clasificados nuevamente como *S. clavata*; todos ellos mostraron susceptibilidad reducida a azoles y equinocandinas y todos eran portadores de la sustitución en la región HS1 del gen *FKS*, relacionada con la resistencia a equinocandinas.



### **P43. Actividad vioporina de las proteínas estructurales B117L y B169L del virus de la peste porcina ASFV**

Anne Elizaga<sup>1,2</sup>, Lidia Gomez-Lucas<sup>3</sup>, Joao Zulaica<sup>2,4</sup>, Martín Yanguas<sup>4</sup>, José Luis Nieva<sup>2,4</sup>, Eneko Largo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UPV/EHU, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería. Barrio Sarriena s/n Leioa, España.

<sup>2</sup> Instituto Biofisika (CSIC-UPV/EHU). Barrio Sarriena s/n Leioa, España.

<sup>3</sup> BMC, Uppsala University Department of Chemistry, Husargatan 3, 751 23 Uppsala, Suecia.

<sup>4</sup> UPV/EHU, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencia y Tecnología. Barrio Sarriena s/n Leioa, España.

La peste porcina africana es una enfermedad infecciosa causada por el virus ASFV (*African Swine Fever Virus*) que se caracteriza por sus altas tasas de mortalidad, cercanas al 100% y que genera enormes pérdidas socioeconómicas, ya que no se dispone ni de vacunas ni de medidas de control eficaces. Actualmente la epidemia afecta a diferentes países de África, Asia, Europa y recientemente América, y ha sido relacionada con el origen de la pandemia del SARS-CoV2. El ASFV pertenece a la familia *Asfarviridae*, que se engloba dentro de las familias de los virus gigantes de DNA que se replican en el citoplasma. Al igual que otros miembros como los Poxvirus, el ASFV posee varias envueltas lipídicas y penetra en la célula mediante viropexia. El conocimiento del ciclo viral y de las funciones del proteoma de ASFV son extremadamente limitados. Con el objetivo final de identificar dianas útiles para el desarrollo de vacunas o inhibidores que permitan controlar la enfermedad, en este trabajo se pretende explorar la presencia de actividad vioporina en el proteoma de ASFV. Las vioporinas son proteínas pequeñas, hidrofóbicas y oligoméricas, codificadas en el genoma viral, capaces de formar poros en membranas y que modifican la homeostasis celular participando en procesos como el desarrollo del ciclo viral o el control de la apoptosis. Existen inhibidores específicos para la actividad de estas vioporinas, que ya han sido utilizados, como la amantadina, y se ha propuesto que estas proteínas podrían ser una diana para el desarrollo de vacunas atenuadas.

En este trabajo demostramos que las proteínas estructurales B117L y B169L, presentan una actividad vioporina significativa, siendo además relevantes en el proceso de patogenia y desarrollo del ciclo viral. Ambas proteínas se localizan en la envuelta interna del virión. La actividad de B169L encaja en el patrón de las vioporinas de la clase IIA, ya que se localiza en el retículo endoplasmático cuando se expresa, y es capaz de oligomerizar y permeabilizar membranas lipídicas, formando poros de un tamaño definido. Aunque depende de la presencia de lípidos cargados, el pH no parece ser un factor determinante de su actividad. B117L por su parte, además de una actividad vioporina, dependiente de lípidos cargados y de pH ácido, presenta actividad fusogénica, que depende de la presencia de BMP, un lípido específico de los endosomas tardíos, por lo que proponemos que podría estar implicada en el proceso de infección, en concreto, en la etapa en la que el virión escapa del endosoma para entrar al citoplasma. Postulamos que esta actividad estaría facilitada por la capacidad de B169L de permeabilizar dicha envuelta, lo que permitiría la acidificación del interior del virión. Así, ambas proteínas serían fundamentales en el proceso infectivo del virus y su inhibición o bloqueo, podrían muy útiles para el control de la epidemia de peste porcina africana.

## P44. Avances en el desarrollo de alternativas terapéuticas contra *Candida*

Estibaliz Mateo<sup>1</sup>, Elena Sevillano<sup>1</sup>, Cristina Marcos-Arias<sup>1</sup>, Katherine Miranda-Cadena<sup>1</sup>, Aitzol Perez-Rodriguez<sup>1</sup>, Iñigo de la Fuente<sup>1</sup>, Nerea Jaureguizar<sup>2</sup>, Guillermo Quindós<sup>1</sup> y Elena Eraso<sup>1</sup>

Grupo de investigación CanBIO (GIC21/24 IT-990-16) Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea <sup>1</sup> Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología

<sup>2</sup> Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina y Enfermería, Leioa

Email: [estibaliz.mateo@ehu.eus](mailto:estibaliz.mateo@ehu.eus); [elena.sevillano@ehu.eus](mailto:elena.sevillano@ehu.eus); [cristina.marcos@ehu.eus](mailto:cristina.marcos@ehu.eus);

[katherine.miranda@ehu.eus](mailto:katherine.miranda@ehu.eus); [aitzol.perez@ehu.eus](mailto:aitzol.perez@ehu.eus); [inidance05@gmail.com](mailto:inidance05@gmail.com);

[nerea.jaureguizar@ehu.eus](mailto:nerea.jaureguizar@ehu.eus); [guillermo.quindos@ehu.eus](mailto:guillermo.quindos@ehu.eus); [elena.eraso@ehu.eus](mailto:elena.eraso@ehu.eus)

La Organización Mundial de la Salud elaboró en 2022 la primera lista de priorización de patógenos fúngicos con el objetivo de reforzar y mejorar la respuesta global a las infecciones que causan. *Candida albicans* es la causa más frecuente de candidemia en el mundo y se considera una especie de prioridad crítica, junto con la especie emergente *Candida auris* que se ha constituido como alerta sanitaria mundial por su gran peligro potencial como hongo multirresistente y que persiste en el ambiente hospitalario. El tratamiento de las infecciones causadas por las especies de *Candida* es difícil debido que las opciones terapéuticas eficaces son limitadas. Además, el aumento de la resistencia a los fármacos antifúngicos ha acentuado la necesidad de descubrir nuevos compuestos para tratar la candidiasis causada por estos patógenos resistentes. En este contexto, el objetivo de nuestro trabajo es el estudio de la actividad antifúngica de nuevos compuestos y de las combinaciones de diferentes fármacos-para el desarrollo de alternativas terapéuticas. En esta línea de investigación se realiza el análisis de nuevos compuestos de origen natural y sintético y el desarrollo de nuevas formulaciones de los fármacos antifúngicos mediante técnicas *in vitro* y modelos *in vivo*.

Con nuestro trabajo se ha demostrado que existe un efecto sinérgico en la combinación de anfotericina B y equinocandinas contra las infecciones causadas por *C. auris* en el modelo invertebrado *Caenorhabditis elegans*, y además se observaron diferentes perfiles de sensibilidad entre fenotipos agregantes y no agregantes. Tanto en este modelo como en el modelo *Galleria mellonella* se ha demostrado que otras alternativas terapéuticas basadas en los péptidos provenientes de la jalea real y nuevos compuestos de origen natural como el citral han mostrado una actividad prometedora, incluso contra biopelículas de *Candida* que son resistentes al tratamiento convencional. Además, hemos comprobado que la encapsulación en liposomas de fitocompuestos con excelente actividad antifúngica contra *Candida* como el carvacrol y el timol es eficaz en la reducción de la toxicidad de estos compuestos sin alterar su actividad. La aparición de resistencias al tratamiento antifúngico clásico, el aumento de especies emergentes y la escasez de fármacos antifúngicos en desarrollo hace necesaria la búsqueda activa de nuevos compuestos y el estudio de combinaciones de fármacos para el tratamiento de las infecciones causadas por hongos.

## **P45. De la identificación fenotípica a la epidemiología molecular de *Candida***

Cristina Marcos-Arias, Estibaliz Mateo, Esther Tamayo, Katherine Miranda-Cadena, Andrea Guridi, Guillermo Quindós y Elena Eraso

*Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería, Leioa.*

*Grupo de investigación CanBIO (GIC21/24 IT-990-16). Email: [cristina.marcos@ehu.eus](mailto:cristina.marcos@ehu.eus); [estibaliz.mateo@ehu.eus](mailto:estibaliz.mateo@ehu.eus); [esther.tamayo@ehu.eus](mailto:esther.tamayo@ehu.eus); [katherine.miranda@ehu.eus](mailto:katherine.miranda@ehu.eus); [andrea.guridi@ehu.eus](mailto:andrea.guridi@ehu.eus); [guillermo.quindos@ehu.eus](mailto:guillermo.quindos@ehu.eus); [elena.eraso@ehu.eus](mailto:elena.eraso@ehu.eus)*

Las micosis invasoras se han convertido en un problema médico importante y el género *Candida* destaca por la tasa de mortalidad global que alcanzan las infecciones que provoca, hasta un 63,6%, a pesar de la disponibilidad de tratamientos antifúngicos activos. *Candida albicans* es el agente etiológico predominante. Sin embargo, en las últimas décadas se ha registrado un cambio en la epidemiología de las candidiasis, probablemente relacionado con un aumento en el uso de fármacos antifúngicos y la aparición de resistencias. El aumento de la incidencia de especies emergentes de *Candida* como *Candida auris* y otras especies como *Candida glabrata*, *Candida parapsilopsis*, *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei* requiere especial atención, ya que algunas de ellas presentan resistencia intrínseca a tratamientos de primera línea. La correcta identificación de los aislamientos es uno de los principales retos ya que las técnicas microbiológicas y bioquímicas habitualmente utilizadas en los laboratorios de microbiología pueden conducir a una identificación incorrecta de especies como *C. auris* o no distinguen entre las especies crípticas presentes en los complejos *C. parapsilopsis* y *C. guilliermondii*. Por ello, nuestro objetivo es profundizar en el diagnóstico, identificación y tipificación epidemiológica de *Candida* mediante métodos moleculares, con el fin de mejorar el pronóstico de las infecciones que causan.

Los resultados más destacados de nuestro trabajo han demostrado, entre otros, que el método molecular que compara polimorfismos en los patrones de restricción de los genes *SADH* y *FKS1* presentó gran concordancia con la secuenciación de las regiones *D1/D2* del ARN ribosómico en la identificación de dos de las especies crípticas del complejo de *C. parapsilopsis*. Los métodos moleculares permitieron corregir la identificación fenotípica de un aislamiento de *Candida intermedia* como *Candida duobushaemulonii* y dos aislamientos de *C. guilliermondii* como *Candida fermentati* y *Meyerozyma neustonensis*, todos ellos con reducida sensibilidad a fármacos antifúngicos como azoles. Por otra parte, monitorizar la diversidad de los aislamientos es de importancia para conocer su filogenia y relacionarla con las características fenotípicas que permiten la expansión de las especies de *Candida*. En este sentido, la diferenciación de aislamientos de *C. parapsilopsis* es un desafío debido a su baja diversidad. Mediante la modificación del protocolo de PCR multiplex de repeticiones cortas en tándem (STR), hemos mejorado el rendimiento de una herramienta valiosa para tipificar aislamientos clínicos de esta especie. En conclusión, el desarrollo de métodos moleculares de diagnóstico, identificación y tipificación permite comprender mejor la epidemiología y la patogenia de las enfermedades infecciosas causadas por el género *Candida*.

## P46. *Helicobacter pylori*: perfil de factores de virulencia en aislamientos obtenidos de pacientes con cáncer gástrico

Esther Tamayo<sup>1</sup>, Milagrosa Montes<sup>2</sup>, Claudia Fernández<sup>1</sup>, Katherine Miranda-Cadena<sup>1</sup>, Guillermo Quindós<sup>1</sup> y Elena Eraso<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Hospital Universitario Donostia - Instituto de Investigación Biosanitaria Biogipuzkoa, Servicio de Microbiología, Donostia.

Email: [esther.tamayo@ehu.eus](mailto:esther.tamayo@ehu.eus); [mariamilagrosa.montesros@osakidetza.eus](mailto:mariamilagrosa.montesros@osakidetza.eus); [cfernandez096@ikasle.ehu.eus](mailto:cfernandez096@ikasle.ehu.eus); [katherine.miranda@ehu.eus](mailto:katherine.miranda@ehu.eus); [guillermo.quindos@ehu.eus](mailto:guillermo.quindos@ehu.eus); [elena.eraso@ehu.eus](mailto:elena.eraso@ehu.eus)

La infección persistente por *Helicobacter pylori* puede asociarse a gastritis crónica, úlcera péptica y gastroduodenal y, en menor medida, a cáncer gástrico. El desarrollo de una u otra patología depende de múltiples variables, aunque entre ellas los factores de virulencia parecen tener el papel más relevante tanto en el establecimiento de la infección como en su evolución. El objetivo principal de este trabajo fue analizar la asociación entre el perfil de los factores de virulencia de *H. pylori* y el desarrollo de enfermedad grave. Para ello, se determinó la presencia/ausencia de los genes codificantes de los factores de virulencia CagA, VacA, BabA, OipA y DupA en aislamientos de *H. pylori* de pacientes con cáncer gástrico (n=10) y de un grupo control que presentaban enfermedades más leves (n=28) obtenidos en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Donostia. En aquellos aislamientos positivos para el gen *vacA* se determinó además el genotipo de las regiones s- y m-, ya que ciertos alelos se han asociado a una mayor virulencia. Asimismo, se estudió mediante amplificación y secuenciación el estado (ON/OFF) del gen *oipA* en el 86% (n=33) de las muestras que presentaban este gen. También se determinó la filogeografía de los aislamientos tras la secuenciación parcial de los genes *atpA*, *efp*, *ureI*, *mutY*, *trpC*, *ppa* e *yphC* mediante MLST. Se realizó la concatenación y alineamiento de los resultados con 47 cepas de referencia que representaban a las tres poblaciones principales de *H. pylori*: hpAfrica1, hpEurope y hpEastAsia.

Se observó que el 70% de los aislamientos de pacientes con cáncer gástrico albergaron el gen *cagA* frente al 57,1% de los aislamientos de pacientes con enfermedad leve. Los genes *vacA*, *oipA*, *dupA* y *babA2* se detectaron en frecuencias similares en ambos grupos de estudio. El genotipo *cagA+/vacAs1m1* fue más frecuente en los aislamientos de pacientes con cáncer (40%) que en los aislamientos de pacientes con enfermedad leve (28,5%). El estado ON de *oipA* fue significativamente mayor en aquellos pacientes con cáncer que con enfermedad leve (75%, 6/8 vs. 32%, 8/17; p valor 0,04). El análisis filogenético clasificó a la totalidad de los aislamientos estudiados dentro de la población hpEurope.

En conclusión, el genotipo más virulento caracterizado como *cagA+/vacAs1m1* fue más frecuente en el grupo de aislamientos de pacientes con cáncer gástrico, así como el estado ON de la adhesina *oipA* indicando su potencial implicación en el desarrollo de una enfermedad más severa.

## P47. Factores de virulencia producidos por *Candida* spp.: estudio de la secreción de enzimas hidrolíticas

Asier Ramos-Pardo<sup>1</sup>, Gloria Pérez<sup>1</sup>, Zuriñe Eguizabal<sup>1</sup>, Katherine Miranda-Cadena<sup>1</sup>, Esther Tamayo<sup>1</sup>, Elena Eraso<sup>1</sup>, Guillermo Quindós<sup>1</sup>, Vladimir Kaberdin<sup>2</sup>, [Elena Sevillano<sup>1</sup>](mailto:Elena.Sevillano@ehu.es)

<sup>1</sup> Universidad del País Vasco UPV/EHU, Dpto de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina y Enfermería. Grupo de investigación CanBIO: “Candidiasis y otras enfermedades asociadas a biopelículas” (GIC21/24 IT-900-16). Barrio Sarriena s/n, 48940 Leioa, España. [asierr2c@gmail.com](mailto:asierr2c@gmail.com); [gperez096@ikasle.ehu.es](mailto:gperez096@ikasle.ehu.es); [zeguizabal001@ikasle.ehu.es](mailto:zeguizabal001@ikasle.ehu.es); [katherine.miranda@ehu.es](mailto:katherine.miranda@ehu.es); [esther.tamayo@ehu.es](mailto:esther.tamayo@ehu.es); [elena.eraso@ehu.es](mailto:elena.eraso@ehu.es); [guillermo.quindos@ehu.es](mailto:guillermo.quindos@ehu.es); [elena.sevillano@ehu.es](mailto:elena.sevillano@ehu.es)

<sup>2</sup> Universidad del País Vasco UPV/EHU, Dpto de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad Ciencia y Tecnología. Barrio Sarriena s/n, 48940 Leioa, [vladimir.kaberdin@ehu.es](mailto:vladimir.kaberdin@ehu.es)

Las diversas especies del género *Candida*, particularmente los aislamientos resistentes a los fármacos antifúngicos, son importantes patógenos que causan micosis invasoras con elevadas tasas de mortalidad, asociados a brotes nosocomiales en unidades de cuidados intensivos. La OMS, los CDC y otras entidades sanitarias clasifican a diversas especies de este hongo dentro de la lista de microorganismos prioritarios y de amenazas para la salud por su multirresistencia y su alta capacidad de persistencia en el ambiente hospitalario. El estudio de los factores de virulencia, entre los que se encuentra la producción de enzimas secretadas, permite conocer los procesos que intervienen en el establecimiento de la enfermedad infecciosa. En este trabajo se estudió el efecto del pH (pH 5,0 y pH 7,5) y la presencia de inductores en la producción de proteasas y lipasas por parte de las principales especies de *Candida* involucradas en procesos infecciosos (*C. albicans*: 4, *C. auris*: 4, *C. parapsilosis*: 3, *C. glabrata* (currently *N. glabratus*): 4, *C. krusei* (currently *P. kudriavzevii*): 4 y *C. tropicalis*: 4). La producción de lipasas se realizó mediante ensayos en placa siguiendo el protocolo de ensayo de opacidad con Tween 80 (con modificaciones), y la producción de proteasas se analizó en placas con leche desnatada en concentración 2 g/L. Ambos medios se ajustaron a pH 5,0 y pH 7,5. El 100% de los aislamientos de *C. auris* secretaron lipasas tanto a pH 5,0 como a pH 7,5. En el caso de *C. albicans*, el efecto lipolítico se observó en el 80% de los aislamientos a pH 5, mientras que únicamente en el 20% a pH 7,5. Sólo un aislamiento de *C. parapsilosis* fue positivo en ambos pH. No se detectaron aislamientos secretores de lipasas pertenecientes a las especies *C. tropicalis*, *N. glabratus* y *P. kudriavzevii*. Se observó una mayor producción de lipasas al adicionar ácido hexanoico y ácido octanoico en el caldo de cultivo. La producción de proteasas únicamente se observó a pH 5,0, siendo las especies más productoras *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* (100% de los aislamientos) seguida de *C. albicans*, *C. auris*, y *N. glabratus* (80 %, 75 % y 25 % de los aislamientos, respectivamente). No se detectó actividad proteolítica en los aislamientos de la especie *P. kudriavzevii*. No se observó un cambio en la producción de proteasas al incluir aminoácidos en el caldo de cultivo. Por lo tanto, la producción tanto de proteasas como de lipasas está influenciada por factores ambientales, como el pH y, además, en el caso de lipasas de la presencia de sustancias inductoras en el medio de cultivo, como ácido hexanoico y ácido octanoico.

**P48. Identificación de los mecanismos moleculares asociados a la quinasa Cds1 asociada al control del daño de DNA, que regulan el desarrollo del apresorio y la infección causada por el hongo fitopatógeno *Magnaporthe oryzae***

Marina Urra<sup>1</sup>, Neftaly Cruz-Mireles<sup>2</sup>, Carlos Bravo-Buitrago<sup>1</sup>, Frank L.H. Menke<sup>2</sup>, Nicholas J. Talbot<sup>2</sup> and Miriam Osés-Ruiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IMAB, Public University of Navarre (UPNA), Campus Arrosadia, Pamplona, Navarra 31006, Spain

<sup>2</sup>The Sainsbury Laboratory, University of East Anglia, Norwich Research Park, Norwich NR4 7UH, UK

El añublo del arroz es una de las enfermedades de los cultivos más amenazadoras a nivel mundial y está causada por el hongo ascomiceto *Magnaporthe oryzae*. Esta enfermedad representa una amenaza a la seguridad alimentaria a nivel mundial. La enfermedad del añublo se ha registrado en más de 85 países e infecta a más de 50 especies diferentes de gramíneas, incluyendo cereales de primera necesidad como son el arroz y el trigo, causando pérdidas anuales de más del 30% de la cosecha. La infección comienza cuando un conidio asexual tricelular se posa en la superficie rígida e hidrófoba de una hoja y germina. El tubo germinativo se diferencia en una nueva célula de infección llamada apresorio. El apresorio se desarrolla y madura hasta que una hifa emerge del poro basal para romper la cutícula de la hoja, permitiendo al hongo entrar en la planta y causar la infección. El desarrollo del apresorio por *M. oryzae* está estrechamente regulado por el ciclo celular mitótico. La fase de replicación del DNA (fase S) es esencial para el desarrollo del apresorio, constituyendo un punto de control morfogénico. Este punto de control de la fase S está mediado por la vía de la respuesta al daño de DNA y, en concreto, a través de la quinasa canónica con dominio FHA denominada Cds1. Sin embargo, se desconoce cómo opera esta quinasa a nivel molecular para regular la morfogénesis del apresorio. En este estudio llevamos a cabo un ensayo de fosfoproteómica comparativa durante el desarrollo del apresorio entre la cepa silvestre Guy11 y un mutante nulo de Cds1 en presencia y ausencia de hidroxurea, un inhibidor de la replicación del DNA.

Pudimos observar cambios en 277 fosfoproteínas como posibles dianas de Cds1. También utilizamos un cribado de alto rendimiento *yeast two hybrid* (Y2H) y una modelización por inteligencia artificial (IA) para identificar posibles interactores directos de Cds1. Hemos encontrado un total de 417 interactores, de los cuales 35 están implicados en la patogenicidad del hongo. En conjunto, demuestra por primera vez como la respuesta al daño de DNA y el desarrollo del apresorio están conectados a nivel molecular, identificando un repertorio de potenciales genes diana que pueden ser utilizados para futuras estrategias de control contra esta devastadora enfermedad.



## P49. Control de la conidiación en hongos del género *Aspergillus*: La centralidad y especificidad del regulador maestro BrIA a debate

Bereziartu A.<sup>1</sup>, Espeso E.A.<sup>2</sup>, Cánovas D.<sup>3</sup>, Wong K.H.<sup>4</sup>, Extebeste O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología, Dept. de Química Aplicada, Facultad de Química, UPV/EHU, Donostia / San Sebastián. Email: oier.echeveste@ehu.eus

<sup>2</sup>Dept. de Biología Celular y Molecular, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC), Ramiro de Maeztu 9, Madrid.

<sup>3</sup>Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Sevilla

<sup>4</sup>Institute of Translational Medicine, Faculty of Health Sciences, University of Macau, Macau SAR, China.

La generación de esporas asexuales es probablemente el mecanismo principal de diseminación de los hongos. En las especies del género *Aspergillus*, el factor de transcripción BrIA desempeña un papel central en el desarrollo de los tipos celulares que forman los conidióforos, estructuras multicelulares que portan, cada una, miles de esporas asexuales llamadas conidios.

El desarrollo asexual se induce en respuesta a estímulos internos y externos, y se ha descrito que son varios los activadores transcripcionales que unen secuencias diana en el promotor de *brIA* para determinar sus patrones de expresión antes de y durante el desarrollo. También se ha descrito la existencia de represores que unen dianas específicas de la región 5' -UTR de *brIA* para 1) inhibir su expresión en etapas tardías del desarrollo de los conidióforos, y 2) activar el desarrollo sexual.

Este trabajo se inició con un procedimiento de mutagénesis para generar 1) cepas *brIA::HA<sub>3x</sub>* que incluían delecciones seriadas del promotor de *brIA* (*brIA<sup>P</sup>*; abarcando aproximadamente 3 Kb corriente arriba del codón inicial de la isoforma *brIAβ*), 2) cepas en las que los sitios de unión hipotéticos de reguladores transcripcionales que unen a *brIA<sup>P</sup>* fueron eliminados, y 3) cepas con la mutación correspondiente a la sustitución Met1Ile en la isoforma BrIAβ (la isoforma BrIAβ se diferencia únicamente en los primeros 23 aminoácidos con respecto a la isoforma BrIAα).

Ninguna de las cepas generadas mostró el fenotipo aconidial algodonoso o *fluffy* característico del mutante nulo de *brIA* y únicamente la delección de la región de *brIA<sup>P</sup>* que incluye un uORF indujo una inhibición en la formación de conidios. En estas cepas, además, se inducía prematuramente el desarrollo sexual, sugiriendo que la actividad transcripcional de BrIA va más allá de controlar específicamente la conidiación. Resultados de ChIP-Seq apoyan esta hipótesis, y muestran que BrIA une a promotores de genes que codifican actividades necesarias para el crecimiento vegetativo, desarrollo sexual y la respuesta a estrés y sugieren cuál puede ser la causa del fenotipo totalmente aconidial y *fluffy* inducido por mutaciones en la secuencia codificante de BrIA.



## P50. Explorando nuevos genes inhibidores de la conjugación de plásmidos de amplio rango de hospedador

Daniel García-López<sup>1</sup>, Sheila González-Gutiérrez<sup>1</sup>, Fernando de la Cruz<sup>1</sup>, M. Pilar Garcillán-Barcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Universidad de Cantabria – CSIC, Santander. [garciald@unican.es](mailto:garciald@unican.es)

Los plásmidos son clave en la adquisición y propagación de resistencias antimicrobianas. Pero no resultan relevantes solo por ser vehículos genéticos, sino también porque provocan un impacto masivo en el fenotipo, ecología y evolución de las bacterias que los portan <sup>[1]</sup>. Dada la preocupación global por el incremento de cepas multirresistentes, se hace necesaria la búsqueda de estrategias que impidan su transmisión sin ejercer presión selectiva <sup>[2]</sup>. En la naturaleza podemos encontrar este tipo de estrategias anticonjugativas y explotarlas en nuestro beneficio. Una de ellas es la inhibición de la fertilidad, donde un plásmido impide la transmisión de otro plásmido co-residente no emparentado <sup>[3]</sup>. Sin embargo, pese a su potencial interés para afrontar la dispersión de resistencias antimicrobianas, hay muchas preguntas que quedan por resolver con respecto a este fenómeno.

En este trabajo, utilizando herramientas bioinformáticas, hemos ampliado el catálogo de factores de inhibición de la fertilidad, previamente descritos como ejemplos aislados, ofreciendo una visión más amplia de su distribución en Unidades Taxonómicas Plasmídicas (PTU) y cromosomas. Además, hemos estudiado su rango de actividad contra una batería de plásmidos conjugativos y movilizables, y seleccionado aquellos factores que eran efectivos contra plásmidos de amplio rango de hospedador para esclarecer su mecanismo de acción. Asimismo, hemos generado y analizado una colección de plásmidos mutantes capaces de escapar de la inhibición de la fertilidad, con el fin de esclarecer los bases moleculares del fenómeno de inhibición de la fertilidad.

### Referencias

- [1] Rodríguez-Beltrán, *et al.* *Nat Rev Microbiol.* **19**, 347-359 (2021).
- [2] Baquero, F., Coque, T. M. & Cantón, R. *Expert Opin. Ther. Targets.* **18**, 851–861 (2014).
- [3] Getino, M. & De La Cruz, F. *Microbiol. Spectr.* **6**, 6.1.03 (2018).

### Financiación

Ministerio de Universidades (FPU21/05415); Ministerio de Ciencia e Innovación (proyecto PID2020-117923GB-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033).

## P51. Epidemiología de *Staphylococcus aureus* resistente a mupirocina asociado a infección de piel y partes blandas en niños

Maialen Larrea<sup>1,2</sup>, Begoña Vilar<sup>1</sup>, Iratxe Huerta<sup>2,3</sup> y Leyre López<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Hospital Universitario Cruces, Servicio Microbiología. Barakaldo. Bizkaia. [maialen.larreaayo@osakidetza.eus](mailto:maialen.larreaayo@osakidetza.eus).

<sup>2</sup>Departamento de Medicina. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Deusto. Bilbao.

<sup>3</sup>IMQ Análisis, Departamento de Genética y Biología Molecular. Erandio. Bizkaia.

### INTRODUCCIÓN

La mupirocina tópica junto con el ácido fusídico se incluyen en los protocolos comunitarios de manejo empírico de las infecciones cutáneas bacterianas en paciente pediátrico. Están indicados en el tratamiento de infecciones leves y localizadas por *Staphylococcus aureus*.

### OBJETIVOS

Se ha revisado retrospectivamente la tasa de resistencia a mupirocina y ácido fusídico en aislados de *S. aureus*, procedentes de infección de piel de origen comunitario en pacientes pediátricos (0-14 años) de la OSI EEC, OSI URIBE y OSI BS durante los últimos 6 años. El objetivo de este estudio es conocer la incidencia de estas resistencias y observar su tendencia a lo largo de la época pre- y post-COVID.

### RESULTADOS

En la siguiente tabla se exponen los aislados totales de *S. aureus* de las infecciones cutáneas en la población diana junto con los % de resistencia a los antibióticos mencionados.

	2017	2018	2019	2022	2023	2024*
<b>Nº aislados (total)</b>	77	92	81	86	142	114
<b>Mupirocina</b>	28,6%	37,1%	35,8%	38,4%	61,2%	58,7%
<b>Ácido fusídico</b>	2,7%	3,3%	2,5%	2,3%	2,9%	1,7%

**Tabla 1.** % de resistencia a los antibióticos en las cepas de *S. aureus* a lo largo del periodo analizado.

\*En 2024 se han contabilizado las cepas aisladas hasta el 30/09/2024.

### DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos, las cepas de *S. aureus* resistentes a mupirocina han mostrado una tendencia ascendente desde la época preCOVID. Desde 2022, se observa un importante aumento de casos de infección por *S. aureus* junto con un incremento significativo de cepas resistentes a mupirocina, lo que puede conllevar a fracaso terapéutico y aparición de nuevas cepas resistentes. Por su parte, en el caso del ácido fusídico, su resistencia se mantiene estable y reducida.

### CONCLUSIONES

Los datos de resistencia de *S. aureus* de nuestro estudio, sugieren revisar y actualizar los protocolos de manejo empírico de las infecciones de piel en pediatría, para priorizar y/o singularizar el uso de ácido fusídico en los tratamientos tópicos.

## P52. Efecto inter-generacional del floroglucinol en la inflamación intestinal causada por la infección con *Salmonella Typhimurium*

Iratxe Seoane<sup>1,2</sup>, Sarai Araujo-Aris<sup>2</sup>, Naiara Gutiez<sup>2</sup>, Eneko Santos<sup>2</sup>, Itziar Martín-Ruiz<sup>2</sup>, Aize Pellón<sup>2</sup>, Ainize Peña-Cearra<sup>1,2</sup>, Héctor Rodríguez<sup>2</sup>, Juan Anguita<sup>2,3</sup>, Leticia Abecia<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería, Barrio Sarriena s/n. 48940 Leioa

<sup>2</sup> Inflammation and Macrophage Plasticity lab, CIC bioGUNE-BRTA (Basque Research and Technology Alliance), Parque Científico Tecnológico de Bizkaia building 801A, 48160 Derio

<sup>3</sup> Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbao

**Introducción:** *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* (*S. Typhimurium*) es un importante patógeno que causa millones de intoxicaciones alimentarias al año e inflamación intestinal. En los últimos años, se ha iniciado el estudio de la utilización de la dieta o componentes de esta para prevenir y tratar enfermedades mediante la modulación de la respuesta inmunitaria. El floroglucinol es un metabolito microbiano derivado de la transformación por la microbiota de fenoles de alimentos como los arándanos, el té o el vino, que posee propiedades anti-inflamatorias. Resultados previos de nuestro grupo de investigación han demostrado que el floroglucinol puede entrenar los macrófagos de la médula ósea a largo plazo, disminuyendo la respuesta inflamatoria y reduciendo la gravedad de la enfermedad en un modelo murino de inflamación intestinal causada por el dextrano sulfato de sodio (DSS). Por otro lado, se ha descrito que el floroglucinol es capaz de generar cambios epigenéticos heredables en un modelo de infección (Roy *et al.*, 2019).

**Objetivos:** determinar el efecto del floroglucinol en un modelo de inflamación con un origen biológico empleando un modelo de infección con *Salmonella* y estudiar si el efecto es transmisible a la siguiente generación.

**Resultados:** los resultados obtenidos muestran que la administración de floroglucinol es perjudicial en un modelo murino de infección con *Salmonella*. De forma similar, las crías de hembras que reciben floroglucinol un mes antes del periodo de gestación muestran una enfermedad más severa y una menor tasa de supervivencia que las crías de las hembras del grupo control que no recibieron este metabolito previamente a la infección, lo que apunta a una transmisión intergeneracional del efecto del metabolito.

**Discusión:** los resultados difieren de lo observado en nuestro modelo de inflamación intestinal y de los observados en un modelo de infección con *Salmonella* con otro compuesto fenólico, la fletina (Zang *et al.*, 2021) apuntando a un papel distinto, dependiente de la patología, del “entrenamiento inmune” ejercido por el floroglucinol. Aunque la transmisión del entrenamiento innato inmune ha sido descrita previamente a través del esperma, es la primera descripción de transmisión intergeneracional por un metabolito microbiano y también de transmisión a través de las hembras.

**Conclusiones:** el floroglucinol presentó un efecto perjudicial en un modelo de infección con *Salmonella* y sus efectos negativos también se transmitieron a la siguiente generación.

## P53. Estudio del hongo patógeno *Aspergillus fumigatus*: resistencia antifúngica y virulencia

Saioa Cendon-Sanchez<sup>1</sup>, Eduardo Pelegri-Martinez<sup>1</sup>, Uxue Perez-Cuesta<sup>1</sup>, Xabier Guruceaga<sup>2</sup>, Ana Abad-Diaz-de-Cerio<sup>1</sup>, Andoni Ramirez-Garcia<sup>1</sup>, Aitor Rementeria<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>IMAB, Universidad Pública de Navarra (UPNA). Campus Arrosadía, Pamplona, España.

*Aspergillus fumigatus* es un hongo patógeno capaz de causar un amplio espectro de infecciones dependiendo del sistema inmunitario del paciente. Las infecciones causadas por este hongo son tratadas mayoritariamente con azoles. Los tratamientos prolongados de los pacientes con infecciones fúngicas sumado al uso de estos compuestos en la agricultura, establecen las dos reconocidas rutas por las que este patógeno adquiere resistencia. Además, hay muchas incógnitas sobre el proceso de infección de *A. fumigatus* debido a que muchos genes no se han estudiado a fondo y parecen codificar proteínas sin función conocida, hipotéticas o no clasificadas. El incremento de las resistencias antifúngicas y su capacidad de desarrollar infecciones invasivas son los motivos por los que este microorganismo ha sido clasificado por la Organización Mundial de la Salud en el grupo de patógenos fúngicos de prioridad crítica.

Por ello, el grupo de investigación MicrobiomicsEHU se centra, por una parte, en el estudio de la prevalencia de este hongo en el ambiente y, por otra, en la definición de nuevos factores de virulencia. Para llevar a cabo el primer objetivo, se realizaron muestreos ambientales en la Comunidad Autónoma del País Vasco durante 2021 y 2022, incluyendo tres puntos de muestreo en cada provincia que corresponden a diferentes áreas: hospitalarias, rurales y urbanas. De todos ellos se aislaron un total de 20 colonias de *A. fumigatus* las cuales se identificaron mediante la secuenciación de la región ITS. Además, se determinó la concentración mínima inhibitoria para el voriconazol mediante el método EUCAST, resultando el 15% de los aislados de esta especie resistentes. Adicionalmente, para las cepas resistentes se secuenciaron los genes *cyp51A* y *cyp51B*, genes cuya relación con la resistencia a azoles ha sido previamente descrita, y se estudió mediante EUCAST la posible resistencia cruzada con itraconazol y posaconazol. Para el estudio de nuevos factores de virulencia, MicrobiomicsEHU investiga la patogénesis de *A. fumigatus* desde una perspectiva multi-ómica (transcriptómica, genómica y proteómica). Estos estudios han permitido detectar genes interesantes relacionados con la infección y se ha profundizado en ellos mediante la generación de cepas mutantes para describir sus funciones. Actualmente, se están estudiando dos proteínas de función desconocida codificadas por los genes Afu4g10610 y Afu6g00430 de *A. fumigatus*. Ambas se detectaron como sobre-expresadas en modelos de infección *in vivo* e *in vitro*, y para su estudio fenotípico se han realizado cepas mutantes de delección y etiquetado de las proteínas con histidinas y GFP. En conjunto podemos avanzar que ambas proteínas presentan un fenotipo prometedor que las posiciona como potenciales nuevos factores de virulencia del hongo. No obstante, continuar con una caracterización en profundidad es esencial para entender su función y potencial utilidad como dianas diagnósticas, terapéuticas y/o antifúngicas.

## **P54. Enfoque interdisciplinar para combatir la resistencia a los antibióticos utilizando estrategias moleculares, estructurales y nanotecnológicas**

Lide Arana Urbietta<sup>1</sup>, Lucia Gallego Andrés<sup>2</sup>, Paola Fucinni<sup>3,4</sup> e Itziar Alkorta Calvo<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*

<sup>2</sup>*Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa, España*

<sup>3</sup>*Centro de Investigación de Biología Marina Experimental y Biotecnología, Estación Marina de Plentzia Universidad del País Vasco (PiE-UPV/EHU, Plentzia, España*

<sup>4</sup>*IKERBASQUE, Fundación Vasca para la Ciencia, Bilbao, España*

<sup>5</sup>*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)*

El descubrimiento de los antibióticos dio paso a la medicina moderna y marcó un punto de inflexión para la expectativa de vida de la humanidad. Desgraciadamente el abuso y mal uso de los antibióticos nos ha llevado a una situación donde los antibióticos disponibles hoy en día se están haciendo ineficaces. Si no se pone solución al problema volveremos a una era post antibiótica que se cobrará más vidas que el cáncer o las enfermedades cardiovasculares. Por otra parte, aunque el problema se percibe casi exclusivamente desde el punto de vista clínico, su origen está en el medio ambiente donde los antibióticos y otros contaminantes emergentes ejercen sobre las bacterias medioambientales una presión ecológica que las fuerza a diseminar los genes de resistencia para hacer frente a esta amenaza medioambiental. Como consecuencia de ello, las bacterias patógenas hospitalarias adquieren dichos genes convirtiéndose en bacterias multirresistentes (coloquialmente conocidas como superbacterias, bacterias patógenas resistentes a casi todos los antibióticos conocidos).

Ante esta situación, es urgente encontrar soluciones innovadoras que maximicen la eficacia de los tratamientos actuales a la vez que buscan nuevas alternativas, no sólo para encontrar nuevos antibióticos, si no para desarrollar nuevas estrategias que impidan la diseminación de las resistencias a antibióticos entre bacterias.

En este sentido, este trabajo muestra resultados desde tres enfoques diferentes para luchar contra la resistencia a antibióticos:

1. Búsqueda de moléculas que impidan la diseminación de las resistencias a antibióticos entre bacterias de diferentes ecosistemas
2. Caracterización de nuevas estructuras químicas y nuevas dianas antibióticas
3. Diseño de nanopartículas para un uso más eficiente de los antibióticos ya existentes

Este trabajo ha sido subvencionado por el proyecto Gobierno Vasco (IT1578-22).

## P55. Estudio del efecto de los estreses ambientales sobre los factores de virulencia del hongo patógeno *Candida auris*

Maialen Areitio<sup>1,†</sup>, Oier Rodriguez-Erenaga<sup>1,†</sup>, Leire Aparicio-Fernandez<sup>1</sup>, Lucía Abio-Dorransoro<sup>1</sup>, Leire Martin-Souto<sup>1,2</sup>, Idoia Buldain<sup>1</sup>, Beñat Zaldibar<sup>3</sup>, Alba Ruiz-Gaitan<sup>4</sup>, Javier Pemán<sup>4</sup>, Salomé Leibundgut-Landmann<sup>5,6</sup>, Aitor Rementeria<sup>1</sup>, Aitziber Antoran<sup>1</sup>, Andoni Ramirez-Garcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU); <sup>2</sup>CF Center Westbrandenburg, HMU-Health and Medical University; <sup>3</sup>Grupo de Investigación CBET, Dpto. de Zoología y Biología Celular Animal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Centro de Investigación de Biología y Biotecnología Experimental Marina PIE, Universidad del País Vasco (UPV/EHU); <sup>4</sup>Dpto. de Microbiología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe; <sup>5</sup>Section of Immunology, Vetsuisse Faculty, University of Zürich <sup>6</sup>Institute of Experimental Immunology, University of Zürich. † Maialen Areitio y Oier Rodriguez-Erenaga han contribuido de manera equitativa. E-mail: oier.rodriguez@ehu.eus

Desde la identificación de *Candida auris* en 2009, el tratamiento adecuado de las infecciones causadas por este hongo y su eliminación de los entornos hospitalarios han supuesto un gran desafío. La dificultad para erradicar *C. auris* de manera eficaz puede atribuirse, en gran parte, tanto a la alta resistencia a agentes antifúngicos como a estreses ambientales. En este contexto, y de acuerdo con la hipótesis publicada por Casadevall *et al.* (2019), la resistencia a temperaturas elevadas podría ser relevante en el desarrollo de la patogenicidad del hongo. Además, la resistencia al estrés oxidativo podría ayudar al hongo a escapar de la respuesta inmune. Por ello, el principal objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la temperatura y el estrés oxidativo sobre los factores de virulencia de *C. auris*. Primero, mediante electroforesis bidimensional, se analizaron las alteraciones en la expresión proteica de *C. auris* en presencia de diferentes temperaturas de incubación, como 28°C, 37°C y 40°C, así como en presencia de estrés oxidativo bajo 8 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A continuación, para observar cambios en el patrón antigénico reconocido, se realizaron *Western Blot* utilizando sueros de ratones y humanos con infecciones diseminadas provocadas por *C. auris*. Posteriormente, mediante espectrometría de masas, se identificaron varias proteínas diferencialmente expresadas y con alteraciones en la inmunoreactividad, entre las que destacaron la peroxiredoxina Tsa1b y formiltetrahidrofolato sintetasa (FTHF). Finalmente, mediante la técnica de CRISPR-Cas9 se generaron mutantes de delección de dichos genes y se realizó su caracterización mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Los resultados obtenidos indican una mayor susceptibilidad de las cepas mutantes frente a diferentes estreses ambientales. Además, el mutante de delección Tsa1b mostró una menor supervivencia tras la co-incubación con diferentes tipos celulares del sistema inmunológico y una menor virulencia en infecciones diseminadas causadas en *Galleria mellonella* y ratones.

En conclusión, los resultados obtenidos en este estudio nos indican la importancia de los mecanismos de resistencia de *C. auris* en presencia de estreses ambientales, y la implicación de los mismos en la virulencia del hongo.



## P56. Estudio de los cambios promovidos por el hongo *Candida albicans* en las células de melanoma B16-F10

Leire Aparicio-Fernandez<sup>1</sup>, Nahia Cazalis-Bereicua<sup>1</sup>, Maialen Areitio<sup>1</sup>, Oier Rodriguez-Ereñaga<sup>1</sup>, Leire Martin-Souto<sup>1</sup>, Idoia Buldain<sup>1</sup>, Aitor Benedicto<sup>2</sup>, Joana Márquez<sup>2</sup>, Beatriz Arteta<sup>2</sup>, Aize Pellon<sup>3</sup>, David L. Moyes<sup>3</sup>, Ana Aransay<sup>4</sup>, Nuria Macias-Cámara<sup>4</sup>, Monika Gonzalez<sup>4</sup>, Jose Ezequiel Martin Rodriguez<sup>4</sup>, Juan Anguita<sup>4, 5</sup>, Aitor Rementeria<sup>1</sup>, Aitziber Antoran<sup>1</sup>, Andoni Ramirez-Garcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. Inmunología, Microbiología y Parasitología, Fac. Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU) Leioa, España, E-mail: aitziber.antoran@ehu.eus;

<sup>2</sup>Dept. Biología Celular e Histología, Fac. Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco (UPV/EHU) Leioa, España;

<sup>3</sup>Centre for Host-Microbiome Interactions, Fac. of Dentistry, Oral & Craniofacial Science, King's College London, London, United Kingdom;

<sup>4</sup>Center for Cooperative Research in Biosciences (CIC bioGUNE), Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio, España;

<sup>5</sup>Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbao, España.

El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo. En los últimos años, el interés en investigar la implicación de los hongos en la carcinogénesis ha aumentado significativamente, destacándose especialmente *Candida albicans*. Sin embargo, hasta la fecha, existen pocos estudios sobre el efecto que este hongo ejerce sobre las células tumorales y, concretamente, ninguno en el caso del melanoma. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es profundizar en los cambios inducidos por *C. albicans* en células de melanoma, tanto *in vitro* como *in vivo*.

En primer lugar, se evaluaron los efectos de *C. albicans* sobre el fenotipo pro-tumoral de las células de melanoma mediante ensayos *in vitro* que incluyeron migración celular, adhesión a células endoteliales, reprogramación metabólica y proliferación celular, así como su efecto pro-metastático mediante experimentos *in vivo* en ratones. Los resultados indicaron un aumento significativo en todos los procesos tras la exposición al hongo. Para entender los mecanismos subyacentes, se llevaron a cabo análisis de expresión génica por RNA-seq, los cuales revelaron la sobreexpresión de genes vinculados a las vías de señalización MAPK y HIF-1. Para profundizar aún más, se emplearon inhibidores moleculares específicos de distintas rutas metabólicas tras lo cual se analizó la secreción de la molécula pro-angiogénica VEGF mediante ELISA, y la expresión de varias proteínas y genes relacionados a través de Western blot y RT-qPCR. Los resultados confirmaron la importancia de las rutas pro-inflamatorias mediadas por el factor de transcripción AP-1, principalmente del c-Fos, y de la reprogramación metabólica que *C. albicans* promueve en las células de melanoma.

En conclusión, *C. albicans* induce cambios que favorecen un fenotipo más agresivo en las células de melanoma, a través de las vías MAPK/AP-1 y HIF-1, importantes para la creación de un entorno pro-tumoral y metastático. Por lo tanto, los hallazgos obtenidos en este trabajo podrían permitir el desarrollo de nuevas terapias y tratamientos para los casos de melanoma que pudieran estar causados o agravados por *C. albicans*.



## **P57. Comparación de la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) con otras técnicas de biología molecular para la tipificación de microorganismos de interés clínico**

Mónica Aras<sup>1,2</sup>, Matxalen Vidal-García<sup>1</sup>, Jose Luis Barrios-Andrés<sup>3</sup>, Elena Sevillano<sup>2</sup> y Elena Eraso<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario Basurto, Biobizkaia, Bilbao. Email; [matxalen.vidalgarcia@osakidetza.eus](mailto:matxalen.vidalgarcia@osakidetza.eus)

<sup>2</sup> Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Enfermería. Grupo de investigación CanBIO (GIC21/24 IT-900-16), Leioa. Email; [elena.sevillano@ehu.eus](mailto:elena.sevillano@ehu.eus); [elena.eraso@ehu.eus](mailto:elena.eraso@ehu.eus)

<sup>3</sup> Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario Cruces, Biobizkaia, Barakaldo. Email; [joseluis.barriosandres@osakidetza.eus](mailto:joseluis.barriosandres@osakidetza.eus)

Email de contacto: [monikaaras@gmail.com](mailto:monikaaras@gmail.com)

Las técnicas de tipificación molecular más utilizadas para el estudio epidemiológico de un brote en el entorno clínico son el estudio de ADN mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y la tipificación de secuencias multilocus (MLST). Estas técnicas presentan ciertas limitaciones ya que son muy laboriosas y requieren de personal altamente cualificado. La espectrometría con transformada de Fourier (FTIR) es una alternativa económica y rápida para la tipificación microbiana. El espectro infrarrojo de un microorganismo refleja la composición bioquímica del mismo y las distancias espectrales se reflejan en un dendograma como una medida de las variaciones bioquímicas entre los diferentes organismos analizados.

El objetivo de este trabajo fue valorar la capacidad de la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier como nueva herramienta para la tipificación de microorganismos de interés clínico. Para ello, se analizaron 77 aislamientos de *Staphylococcus epidermidis* con sensibilidad reducida a la teicoplanina procedentes del Hospital Universitario Cruces y del Hospital Universitario Basurto obtenidos entre 2019 y 2022. La relación genética de los aislamientos se analizó mediante FTIR utilizando el equipo IR Biotyper de Bruker. Los resultados se compararon con los obtenidos mediante PFGE y MLST.

La caracterización molecular de los aislamientos de *S. epidermidis* a través de MLST dio lugar a tres secuenciotipos (ST), mientras que por PFGE los aislamientos se agruparon en 14 pulsotipos (PT). Los resultados con el IR-Biotyper de Bruker agruparon los aislamientos de manera más específica a nivel de ST y menos específica a nivel de PT. Estos resultados indican que el FTIR diferencia muy bien los ST.

Además, la técnica FTIR es sencilla y rápida, y permite obtener resultados en tiempos inferiores a tres horas. Sin embargo, sería necesario analizar un mayor número de muestras para validar los resultados y favorecer su implementación en los laboratorios de microbiología clínica.