

IN-4. Diversidad microbiana y bioprospección

Carolina Díaz-Cárdenas*

Aunque no se puede predecir con exactitud el número de procariotas presentes en la biosfera, se ha aceptado generalmente que a la fecha los microorganismos aislados, caracterizados y descritos representan menos del 1% de la diversidad presente, lo cual sugiere que existiría una increíble diversidad de enzimas, metabolitos y productos naturales por descubrir a partir de este reservorio de diversidad.

El reconocimiento del potencial uso de los microorganismos como fuentes de nuevos compuestos bioactivos, incrementó el desarrollo de estrategias de bioprospección, la cual puede definirse como “la búsqueda sistemática, clasificación e investigación de nuevas fuentes de compuestos químicos, genes, proteínas y otros productos que posean un valor económico actual o potencial y que se encuentran en los componentes de la diversidad biológica”.

La bioprospección basada en los recursos genéticos microbianos es una buena opción teniendo en cuenta: a) La gran cantidad de compuestos bioactivos encontrados en microorganismos; b) Su alta diversidad genética; c) La habilidad de los microorganismos para colonizar diversos ambientes; y d) La relativa facilidad para manipular los genotipos y fenotipos en el laboratorio.

Muchos estudios de bioprospección se han centrado en el estudio de un grupo particular de microorganismos de los cuales se conoce su capacidad para la producción de compuestos de interés, tal es el caso de los *Actinomicetes*, los cuales han sido ampliamente estudiados debido a su importancia en la producción de compuestos antimicrobianos; sin embargo, Bull (2000) ha sugerido que nuevas estrategias de búsqueda para realizar estudios de bioprospección, deberían incluir el estudio de taxones nuevos y taxones de ecosistemas poco explorados, los cuales pueden ser un reservorio importante de genes o compuestos de interés comercial.

La Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental (USBA) a través de la línea de investigación en diversidad biológica aplicada a la biotecnología ambiental, trabaja desde el año 2002 en el análisis de la composición, estructura y función de las comunidades microbianas de ambientes acuáticos extremos. Para esto, en la Unidad se han trabajado técnicas dependientes de cultivo para el aislamiento de microorganismos extremófilos y técnicas de biología molecular para la exploración de la diversidad microbiana.

Las evaluaciones fenotípicas y genotípicas de los microorganismos aislados se complementan con caracterizaciones quimiotaxonómicas y moleculares para la descripción de nuevas especies, géneros, o ambos. Los proyectos de investigación están orientados hacia la evaluación del potencial de los microorganismos aislados mediante el estudio de sus metabolitos secundarios y actividades enzimáticas.

Los resultados obtenidos indican que la diversidad microbiana de ambientes extremos en nuestro país representa un gran reservorio de diversidad genética inexplorado, y una fuente importante de enzimas y metabolitos.

*Microbióloga Industrial. MSc., Pb.D.(c), Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

IN-5. Identificación molecular de *Listeria monocytogenes* en matrices cárnicas

Lina M. López-de-Ávila*

Listeria monocytogenes es un importante patógeno asociado a enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), que produce una infección llamada listeriosis, adquirida por el consumo de alimentos contaminados: carnes, leches, queso, frutas, ensaladas y pescado. Dentro de la población más susceptible a adquirir esta infección están los ancianos, recién nacidos, mujeres en embarazo y, en general, pacientes con compromiso de la inmunidad celular.

Este microorganismo posee características que lo convierten en un importante contaminante de alimentos; su hábitat es el suelo donde permanece de manera saprofita y pueden llegar a los alimentos. Los métodos que actualmente se utilizan para la tamización se basan en técnicas de ausencia/presencia que involucran varios pasos de enriquecimiento y confirmación con pruebas bioquímicas que tardan 15 días en arrojar resultados. Este método no permite tomar decisiones rápidas en la industria de alimentos, lo cual causa incrementos en el tiempo de liberación de productos. Es por esto que el control microbiológico de los alimentos exige técnicas que sean altamente sensibles y específicas, pero que, además, sean rápidas y permitan ejercer un seguimiento en la línea de producción de todo tipo de alimento. Las técnicas moleculares han cobrado gran fuerza en los últimos años como alternativa a los métodos convencionales de detección, aportando una mayor sensibilidad y especificidad; una de las técnicas más utilizadas es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La implementación de la PCR como herramienta de detección elimina las ambigüedades en los resultados de un estudio microbiológico, reportando específicamente el género y especie bacteriana presente en la muestra. La estandarización de técnicas moleculares para la detección de microorganismos a partir de matrices alimenticias exige la evaluación de diferentes métodos de extracción del ADN bacteriano para determinar el mejor desempeño en la realización de la PCR de acuerdo a cada alimento evaluado.

Para matrices cárnicas se han evaluado diferentes métodos de extracción de ADN que involucran lisis celular por choque térmico, purificación con solventes orgánicos y concentración del material extraído. Luego de analizar los resultados de la evaluación de los diferentes protocolos de extracción de ADN y su influencia sobre la reacción de PCR múltiple para la identificación de *Listeria* spp. y específicamente *L. monocytogenes*, basada en la identificación de una región conservada del gen de la subunidad 16S rRNA y el gen hlyA, se determinó que cualquiera de los métodos de extracción de ADN evaluados puede ser aplicado al protocolo de identificación molecular, todos los métodos arrojaron muestras de calidad adecuada para permitir la amplificación de los dos fragmentos esperados. En dirección a reducir tiempo de procesamiento, uso de reactivos costosos y potencialmente tóxicos, se adoptó el método de extracción simple con PBS + Tween 20 como el método de extracción de ADN óptimo para el desarrollo de un protocolo de identificación de rutina de alimentos contaminados con *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes*. Este método es fácilmente aplicable, no se requiere una disposición especial del material de descarte, además el tiempo de procesamiento de las muestras se reduce considerablemente a solo una hora.

*Microbióloga y Bioanalista, Estudiante de Maestría, Universidad de Antioquia, Colombia.