CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico[1]

PERIODO [2]: 2013-2015

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: BOSCH

NOMBRES: MARÍA ALEJANDRA NIEVES

Dirección Particular: Calle:

Localidad: City Bell CP: 1896

Dirección electrónica (donde desea recibir información, que no sea "Hotmail"): bosch@quimica.unlp.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

A) Caracterización molecular y fenotípica de organismos del complejo *Burkholderia cepacia* recuperados de infecciones pulmonares crónicas en pacientes con fibrosis quística.

B) Empleo de métodos espectroscópicos vibracionales aplicados a la caracterización de sistemas biológicos.

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Investigador Adjunto sin Director Fecha: 06/04/2011

ACTUAL: Categoría: Investigador Adjunto sin Director desde fecha: 06/04/2011

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: CINDEFI-CONICET-CCT La Plata, Facultad Ciencias Exactas

Facultad: Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata

Departamento: Química

Cátedra: Biofilms microbianos / Ingeniería Bioquímica

Otros: Área de Biotecnología

Dirección: Calle: 50 Nº: 227 entre 115 y 116

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 221 483 3794

Cargo que ocupa: Profesor Adjunto D. E.

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

[1] Art. 11; Inc. "e"; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).
[2] El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2014 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2012 al 31-12-2013, para las presentaciones bianuales.

Apellido y Nombres:

Dirección Particular: Calle: *Nº:*

Localidad: *CP:* *Tel:*

Dirección electrónica:

....

Firma del Director (si corresponde) Firma del Investigador

6. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA

Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras.

Las infecciones pulmonares en pacientes con fibrosis quística son en general de carácter crónico, lo cual implica que los patógenos deben desarrollar estrategias de adaptación frente a las presiones selectivas impuestas por la limitación de nutrientes, tratamientos antimicrobianos y las defensas del hospedador. Si bien *Pseudomonas aeruginosa* representa el principal patógeno oportunista de estos pacientes, hemos recientemente reportado una alta prevalencia de organismos del Complejo *Burkholderia cepacia* (CBc) en pacientes locales. Estas bacterias son fácilmente trasmisibles entre pacientes, son multi-resistentes y pueden producir neumonía necrotizante con reducción en la expectativa de vida del hospedador. El objetivo de nuestras investigaciones es profundizar el conocimiento sobre las características fenotípicas y genómicas de aislados clínicos de *B. contaminans* recuperados en distintos estadíos de la infección pulmonar crónica y estudiar posibles mecanismos que les permitirían persistir en el hospedador. Estos estudios aportarán información para adecuar estrategias de control de infecciones crónicas.

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicite la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

Mis actividades de docencia, investigación, transferencia tecnológica y extensión, están centradas en dos áreas temáticas fundamentales: **A)** Caracterización molecular y fenotípica de aislamientos clínicos del complejo *Burkholderia cepacia* recuperados de infecciones pulmonares crónicas de pacientes con fibrosis quística; y **B)** Empleo de espectroscopía infrarroja con trasformada de Fourier (FTIR) y métodos de análisis multivariantes aplicados a la caracterización de sistemas biológicos. Dentro de esta última temática estoy dirigiendo un proyecto sobre el estudio de la metabolómica de embriones humanos como herramienta para determinar el potencial de implantación de los mismos en procedimientos de fertilización asistida.

A) Caracterización molecular y fenotípica de aislamientos clínicos del complejo *Burkholderia cepacia* recuperados de infecciones pulmonares crónicas de pacientes con fibrosis quística

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética hereditaria resultante de mutaciones en un gen regulador transmembrana (CFTR), el cual codifica para una proteína que actúa como un canal de cloro dependiente del AMP cíclico. Este defecto genético produce un deterioro en las funciones de múltiples órganos, siendo el tracto respiratorio el más afectado. A nivel pulmonar se produce una alteración de la reología normal del mucus, afectando negativamente la función de depuración mucociliar. Esto lleva a una acumulación de mucus lo cual genera condiciones fisicoquímicas favorables para la colonización bacteriana. Como consecuencia, la principal causa de morbilidad y mortalidad en pacientes fibroquísticos es una progresiva enfermedad pulmonar causada por la colonización con bacterias oportunistas. Estas infecciones producen en muchos casos la muerte prematura del paciente. Si bien *Pseudomonas aeruginosa* es considerado el patógeno prevalente de las vías aéreas de estos pacientes, llevando a severas infecciones, otros organismos son también capaces de colonizar los pulmones de individuos con FQ. Entre estos organismos las bacterias pertenecientes al Complejo *Burkholderia cepacia* (CBc) constituyen agentes muy problemáticos ya que pueden transmitirse fácilmente entre pacientes, son multi-resistentes a agentes antimicrobianos y en algunos casos su presencia produce una neumonía necrotizante con marcada reducción en la expectativa de vida del individuo infectado. Las infecciones producidas por la colonización de organismos del complejo CBc en algunos casos son transientes, sin embargo en la mayoría de los casos las bacterias se instalan de manera crónica, no pudiendo ser erradicadas ni aún después de intensos tratamientos con antimicrobianos. Durante estos procesos infecciosos crónicos las bacterias deben desarrollar mecanismos de adaptación que les permitan persistir en el hostil nicho del hospedador, caracterizado por la presencia de mucus, limitación de nutrientes, presencia de antimicrobianos y diferentes agentes asociados a la respuesta del hospedador. En el caso de *P. aeruginosa*, se ha reportado que durante la infección crónica estas bacterias emplean tres grandes estrategias de adaptación a nivel pulmonar: i) el surgimiento de fenotipos **hipermutadores; ii) la generación de mutaciones adaptativas produciendo diversificación fenotípica; y iii) el desarrollo de biofilm.**

En este escenario, el principal objetivo de esta línea de investigación, iniciada hace más de 10 años, ha sido, luego de caracterizar la epidemiología local y determinar que *B. contaminas* representaba la especie de mayor prevalencia en la región, avanzar en el conocimiento de los mecanismos desplegados **por *Burkholderia contaminas* de persistir en tracto respiratorio de pacientes con fibrosis quística**. Para alcanzar este objetivo nos propusimos estudiar bacterias aisladas, por distintos hospitales de la región, a partir de muestras de esputo de pacientes fibroquísticos con infecciones pulmonares crónicas, definiendo como tal aquellas infecciones que han persistido por 3 o más años en un mismo paciente. El conocimiento a adquirir deberá permitir evaluar las estrategias que se vienen empleando en el control de infecciones crónicas y posibilitar establecer en caso de no resultar adecuadas, el diseño de nuevos métodos de control y eventual eliminación de tales organismos.

En el marco de esta problemática se estudió durante el período informado si en particular, la ocurrencia de cepas con altos porcentajes de mutación (hipermutadas), podría constituir una de las posibles estrategias adoptadas por estas bacterias para persistir y adaptarse al ambiente hostil del hospedador. Se propuso medir en primera instancia, la tasa de mutación de aislados recuperados de infecciones crónicas (principalmente los pertenecientes a la especie de mayor prevalencia en la región, *B. contaminas*). Dada la relevancia y trascendencia que fueron teniendo los resultados encontrados, tanto a nivel local como internacional, se decidió establecer nuevas cooperaciones con diferentes hospitales y grupos de investigación del país (Dra. Andrea Smania, CIQUIBIC, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba) y del exterior (Dr. Antonio Oliver, Servicio de Microbiología y Unidad de Investigación, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca,

España), ambos con reconocida experiencia en la detección y estudio de cepas hipermutadoras de *Pseudomonas aeruginosa*. A partir de los resultados obtenidos **se elaboraron dos trabajos, un trabajo que** fue remitido al **Journal Clinical Microbiology** y otro que se envió a al **International Journal of Medical Microbiology IJMM en Agosto de 2014. Ambos fueron ya publicados.**

Los trabajos en cooperación realizados con diferentes hospitales y centros de asistencia a pacientes con fibrosis quística nos han llevado a disponer en el laboratorio del CINDEFI de más de 400 cultivos en stock de aislamientos recuperados de estos pacientes. Dada la dificultad de manejar, analizar y correlacionar propiedades fenotípicas y moleculares de dichos aislamientos decidimos desarrollar una base de datos que resultara útil, versátil y segura tanto para nosotros como para los profesionales de los centros de atención. Así en cooperación con un grupo de informática y profesionales de distintos hospitales reunimos información sobre características genéticas y fenotípicas de bacterias principalmente pertenecientes al CBc, hemos diseñado y desarrollado una base de datos online basada en un sistema informático que permite el almacenamiento, manejo y visualización de información proveniente de estudios clínicos y del análisis microbiológico de bacterias obtenidas del tracto respiratorio del paciente con FQ. El sistema informático, designado "**Cystic Fibrosis Cloud database"**, está disponible en el sitio http://servoy.infocomsa.com/cfc_ database y su descripción y manual de uso se encuentran publicados en la Revista Argentina de Microbiología (ELSEVIER, España).

8. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

8.1 PUBLICACIONES*. Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

1.- GENETIC DIVERSITY OF *BURKHOLDERIA CONTAMINANS* ISOLATES FROM CYSTIC FIBROSIS PATIENTS IN ARGENTINA.
Pablo Martina, Marisa Bettiol, Cecilia Vescina, Patricia Montanaro, María Mannino, Claudia Prieto, Carlos Vay, Dieter Naumann, Juergen Schmitt, Osvaldo Yantorno, Antonio Lagares, and **Alejandra Bosch***
Journal of Clinical Microbiology, 2013, **51, 1: 339-344.**

Trabajo en equipo con participación de investigadores de Alemania (Robert Koch Institute, Berlín; y Synthon Lab, Heidelberg), Hospital de Niños de La Plata, Hospital de Clínicas de Buenos Aires e IBBM-CONICET-CCT La Plata, Facultad de Cs. Exactas-UNLP. Planifiqué la investigación, coordiné los trabajos como responsable de los mismos, participé en la escritura y discusión de los resultados. Este trabajo consistió en un estudio epidemiológico local sobre la distribución de especies del Complejo *Burkholderia cepacia* en aislamientos recuperados de muestras de esputo de pacientes con fibrosis quística tratados en hospitales locales. Se reporta por primera vez la diferencia en la prevalencia de la especie *B. contaminans* en relación a las infecciones por otras especies del grupo

Burkholderia a nivel mundial donde predomina *B. cenocepacia* o *B. cepacia*. Se analizó asimismo la heterogeneidad genética entre aislados de *Burkholderia contaminans* en particular los que provenían de un brote infeccioso de estos organismos ocurrido a nivel nacional entre los años 2014-2015.

2.- EVALUATION OF BIOFILM-FORMING CAPACITY OF *MORAXELLA BOVIS*, THE PRIMARY CAUSATIVE AGENT OF INFECTIOUS BOVINE KERATOCONJUNCTIVITIS
Claudia Prieto, Diego Omar Serra, Pablo Martina, Melisa Jacobs, **Alejandra Bosch** and Osvaldo Yantorno
Veterinary Microbiology, 2013, **166:** 504-515.
Este trabajo fue realizado en su totalidad en el CINDEFI. Fue un trabajo donde se reportó por primera vez, la formación de biofilm por parte de *Moraxella bovis*, agente causal de la queratoconjuntivitis infecciosa bovina. Se caracterizó el biofilm estructuralmente mediante microscopía láser confocal y el empleo del software COMSTAT, se comprobó que el agregado de $MgCl_2$ al medio de cultivo produce una desestabilización del biofilm maduro y facilita la acción de antibióticos, disminuyendo en consecuencia la concentración inhibitoria mínima requerida para células creciendo en biofilm. Participé como "corresponding autor" directamente en la concepción del trabajo, escritura y discusión de resultados.

3.- HYPERMUTATION IN *BURKHOLDERIA CEPACIA* COMPLEX IS MEDIATED BY DNA MISMATCH REPAIR INACTIVATION AND IS HIGHLY PREVALENT IN CYSTIC FIBROSIS CHRONIC RESPIRATORY INFECTIONS.
Martina, P., Sofía Feliziani, Carlos Juan, Marisa Bettiol, Blanca Gatti, Osvaldo Yantorno, Andrea M. Smania, Antonio Oliver, **Alejandra Bosch.**
International Journal of Medical Microbiology, 2014, **304:** 1182–1191.
Trabajo realizado en equipo, con participación de investigadores de España (A. Oliver, Palma de Mallorca), del CIQUIBIC-CONICET de la provincia de Córdoba (Dra. Andrea Smania) y profesionales del Hospital de Niños de La Plata.
Como autor responsable de la concepción de este trabajo, coordiné las actividades entre los diferentes grupos que participaron del mismo. Planifiqué la investigación, sus requerimientos metodológicos, llevé a cabo la dirección de los trabajos, participé activamente en la escritura y discusión del mismo. En este trabajo se estudiaron más de 120 aislados clínicos de *B. contaminans* recuperados de pacientes tratados en el Hospital de Niños de La Plata. La determinación de la tasa de mutación de los aislamientos la realizó uno de mis becarios, Pablo Martina, en el laboratorio del Dr. Oliver en el Hospital de Palma de Mallorca, España. La determinación de la resistencia a 17 agentes antimicrobianos para cada uno de los 120 aislamientos, fue realizada también por el becario en el Hospital de Niños Sor María Ludovica de La Plata. En el marco de este trabajo se secuenciaron para todos los aislados considerados como hipermutadores, 2 de los genes asociados al sistema de reparación de la síntesis del ADN, pudiendo demostrar que la alta tasa de mutación encontrada en los aislamientos recuperados de infecciones crónicas se podían correlacionar con mutaciones en dicho sistema.

4.- "CYSTIC FIBROSIS CLOUD DATABASE": UN SISTEMA INFORMÁTICO PARA EL ALMACENAMIENTO Y MANEJO DE DATOS CLÍNICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL PACIENTE CON FIBROSIS QUÍSTICA.

Claudia I. Prieto, María J. Palau, Pablo Martina, Carlos Achiary, Andrés Achiary, Marisa Bettiol, Patricia Montanaro, María L. Cazzola, Mariana Leguizamón, Cintia Massillo, Cecilia Figoli, Brenda Valeiras, Silvia Perez, Fernando Rentería, Graciela Diez, Osvaldo M. Yantorno y Alejandra Bosch

Revista Argentina de Microbiología. 2016; 48 (1):27-3

Este trabajo resultó un excelente indicador de la interacción lograda por un grupo multidisciplinario de profesionales vinculados al sector científico (Claudia I. Prieto, Pablo Martina, Mariana Leguizamón, Cintia Massillo, Cecilia Figoli, Brenda Valeiras), con un sector de salud pública de diferentes centros de atención al paciente con fibrosis quística (María J. Palau, Patricia Montanaro, María L. Cazzola Silvia Perez, Fernando Rentería, Graciela Diez) y un grupo de expertos informáticos (Carlos Achiary, Andrés Achiary). En ese sentido he participado en la obtención de fondos para realizar el trabajo, en la coordinación de las actividades realizadas por los diferentes sectores, en la discusión de los resultados, y la redacción final del trabajo. Se logró diseñar un sistema informático que permite recopilar, organizar y correlacionar datos clínicos y microbiológicos obtenidos de pacientes con fibrosis quística tratados en hospitales de la región. La concepción ha sido muy importante ya que estos pacientes, lamentablemente, sufren sucesivas infecciones pulmonares cada año, con lo cual disponer de esta información es crucial para determinar si se trata de una misma población microbiana, si la misma está evolucionando y particularmente si los tratamientos con antibióticos pueden haber dado como resultado la "evolución" de la correspondiente población microbiana. Una parte clave del trabajo consistió en acciones conjuntas de discusión de necesidades del hospital para disponer de forma actualizada, rápida y precisa de datos disponibles en una "nube" y que los mismos puedan ser vistos y cargados y utilizados convenientemente por distintos profesionales de un mismo hospital.

8.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN*. Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deber á escribir una breve justificación.*

8.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION*. Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

8.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION*. Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

***Burkholderia puraquae* sp. nov., a novel *Burkholderia cepacia* complex species recovered from hospital setting samples**

Martina, P.[1], Leguizamon, M.[1], Prieto, C.[1], Montanaro, P.[2] Draghi, W.[4] Bettiol, M.[3]; Palau, M. J.[3]; Vescina, C.[3] Lasch, P.[5], Staembler, M.[5], Sousa, S.[6], Alvarez, F.[7], León, B.[1]; Vignolles, F.[1]; Casco, D.[1]; Figoli, C.[1]; Zorreguieta, A[4] Lagares, A[7]. Yantorno, O. M.[1]; Bosch A.*[1]

During 12 years of epidemiological surveillance involving *Burkholderia cepacia* complex (Bcc) bacteria from respiratory secretions of local patients with cystic

fibrosis and hospitals settings, six Bcc isolates showing a unique *recA* RFLP unusual pattern were obtained. In this work we further examined these isolates together with an additional Bcc strain PBP 78 (R-50214) –whose MLST sequences were previously deposited in the *Bukholderia* PubMLST database–, by a polyphasic approach. The study included *recA*, *16S rRNA* and *hisA* sequence analysis, multilocus sequence analysis (MLSA), DNA base composition, fatty acid metyl ester analysis, RAPD genotyping, MALDITOF-MS spectrometry and biochemical identification by classical and automated system tests. Based on the results, we could confirmed that the 7 isolates represent a single novel species within the Bcc, for which we proposed the name *Burkholderia puraquae* sp nov. The type strain is *B. puraquae* CAMPA 1040 which can be differentiated from other Bcc species by *recA* gene sequence analysis, MLSA, and only few biochemical tests including growth at 42ºC, lysine decarboxylase and β-galactosidase activity and esculin hydrolysis.

Este trabajo, del cual soy el "*corresponding autor"*, fue realizado en cooperación entre 20 coautores pertenecientes a 7 instituciones diferentes, entre laboratorios de hospitales públicos de la Provincia de Buenos Aires y de Córdoba, centros de investigación nacionales e internacionales, cada uno de los cuales contribuyó a la identificación de los aislamientos locales aplicando los conocimientos específicos y tecnologías disponibles de cada laboratorio.

1. CINDEFI-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.
2. Servicio de Microbiología, Hospital Santísima Trinidad de Córdoba, Córdoba, Córdoba, Argentina.
3- Sala de Microbiología, Hospital de Niños "Sor Maria Ludovica", La Plata, Buenos Aires, Argentina.
4 -Fundación Instituto Leloir -CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires Argentina.
5 - Robert Koch Institute, Berlín, Alemania
6- Sílvia Andreia Bento da Silva Sousa, Biological Science Research Group, IBB - Institute for Bioengineering and Biosciences, Instituto Superior Técnico, Lisboa, PORTUGAL
7- IBBM-CONICET, Instituto de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP

***8.5 COMUNICACIONES**. Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

***8.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS**. Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

9. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

***9.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS.** Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

***9.2 PATENTES O EQUIVALENTES**. Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

Patente en trámite presentada en la Dirección de de Vinculación Tecnológica – CONICET.
Título: NUEVOS COMPUESTOS DERIVADOS DE GUANIDINAS COMO ANTIBACTERIANOS CONTRA BACILOS GRAMNEGATIVOS NO FERMENTADORES MULTIRRESISTENTES. Autores: Mauricio Erben, Yanina A. Lamberti, Alejandra Bosch y Aemer Saed Bhatti.
Resumen de la patente: Es el descubrimiento de nuevas sustancias con probada actividad antibacteriana *in vitro.* El invento consiste en un método de preparación por síntesis química de dos compuestos nuevos del tipo guanidinas que muestran actividad antibacteriana *in vitro* contra un panel de organismos gram negativos multirresistentes de relevancia en infecciones en pacientes con fibrosis quística, inmunodeprimidos, y con enfermedad granulomatosa crónica. La actividad es comparable o superior a los antibióticos prescriptos en los tratamientos con antimicrobianos de uso clínico.
Los nuevos compuestos fueron testeados en su actividad antibacteriana contra un panel de 8 aislamientos clínicos gram negativos multirresistentes identificados a nivel de especie recuperados de pacientes con fibrosis quística . Entre estos aislados se ensayaron especies del complejo *Burkholderia cepacia* y otras especies relevantes como *Achromobacter xylosoxidans* e *Inquilinus limo*sus. Los estudios de sensibilidad a antibióticos se realizaron aplicando dos métodos cuantitativos que permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM).

***9.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRASNFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO**. Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

Desarrollo de una metodología no invasiva basada en Espectroscopía Infrarroja, para la detección del potencial de implantación de embriones previo a su transferencia en tratamientos de fertilización asistida

Instituciones: CINDEFI-UNLP-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

Empresa: CENTRO DE FERTILIDAD BUENOS AIRES S.A. (PREGNA). Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Directores: Osvaldo Yantorno, Alejandra Bosch (CINDEFI) y Dr. Marcos Horton y Dr Marcelo Garcea (PREGNA)

El objetivo del proyecto es el desarrollo de una metodología no invasiva basada en espectroscopía infrarroja combinada con técnicas estadísticas multivariantes para discriminar embriones con diferente potencial de implantación en tratamientos de Fertilización Asistida.

La Fertilización in Vitro (FIV) constituye uno de los tratamientos médicos más aceptados a nivel mundial para completar una gestación en parejas infértiles. Si bien el procedimiento se considera seguro, existen varios inconvenientes no resueltos aún. Entre los que se encuentran, el alto costo del procedimiento, la relativa baja tasa de éxito (alrededor del 20 %) y el riego de ocasionar embarazos múltiples. Estas problemáticas se generan principalmente por la dificultad que existe para estimar con precisión el potencial de implantación de un embrión en una cohorte de embriones. Actualmente previo a su transferencia los embriones son evaluados mediante el análisis

de su morfología por microscopía, o de forma invasiva, a través del Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP).

El gran desafío en el campo de la fertilización *in vitro* (FIV) consiste en aumentar la tasa de embarazo y disminuir la prevalencia de gestaciones múltiples. Esta investigación propone emplear la metabolómica embrionaria como estrategia para evaluar la viabilidad embrionaria y la capacidad de implantación de los mismos. Estos estudios consisten en analizar el conjunto de metabolitos intermediarios que participan en el crecimiento y desarrollo de los embriones fertilizados in Vitro durante los primeros tres días de incubación aplicando la espectroscopía FT-IR. La implementación de esta técnica genera un complejo conjunto de datos cuyo análisis requiere la utilización de la quemometría. Esta disciplina consiste en la aplicación de métodos estadísticos y/o matemáticos a los espectros FT-IR con la finalidad de extraer la información contenida en los mismos.

Hasta el presente se han cumplido las siguientes metas:

i. Optimizado y estandarizado el protocolo de toma y procesamiento de muestras.

ii. Desarrollamos una librería espectral integrada con 2500 espectros IR.

iii. Construimos una base de datos ("Open-Clínica" http://OpenClinica/pages/login) con información clínica recopilada de 268 pacientes y con los datos de las características de los embriones recolectados.

iv. Luego de ensayar diversos modelos multivariantes, se alcanzó el desarrollo de un sistema basado en redes neuronales artificiales capaz de clasificar los sobrenadantes de cultivo de los embriones según la probabilidad de implantación del embrión.

La relevancia de los resultados obtenidos hasta este punto nos permitió acceder al Premio INNOVAR 2015 otorgado por la Secretaría de Planeamiento y Políticas de Ciencia e Investigación del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCyT). Los fondos recibidos en el marco de este premio fueron empleados para subsidiar una estadía de la becaria Lic. Cecilia Figoli, al "Institute of Mathematical Sciences and Technology"(IMT), de la Universidad de Ciencias de la Vida (Norwegian University of Life Sciences (NMBU), de Ås, Noruega. La estadía le ha permitido a la becaria adquirir una vasta formación en el empleo de métodos matemáticos para el análisis de espectros infrarrojos y otras variables. Entre los métodos informáticos que se implementarán se piensa desarrollar sistemas estadísticos matemáticos que permitan combinar la información contenida en espectros FT-IR de sobrenadantes de cultivo, con datos de la futura madre, que puedan llegar a contribuir a avanzar en el conocimiento de factores que puedan afectar la implantación favorable del embrión. Entre estos factores consideraremos: i) el estado uterino de la madre, ii) la edad de la madre (joven, media, avanzada); iii) la calidad de la transferencia (normal, dificultosa, muy dificultosa, A, B, C, respectivamente), iv) las características morfológicas del embrión (MI, MII, MIII, MIV).

LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL MARCO DE ESTE TRABAJO NO PUEDEN SER AUN PUBLICADOS YA QUE SE REALIZARON BAJO LA FIRMA DE UN ACUERDO DE CONFIDIALIDAD ENTRE LAS PARTES
(Se adjunta el contrato firmado oportunamente)

9.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

9.5 *Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.*

***10. SERVICIOS TECNOLÓGICOS**. Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

11. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

11.1 DOCENCIA

11.2 DIVULGACIÓN

-DIVERSIDAD GENÉTICA Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA RECUPERADAS DE PACIENTES FIBROQUISTICOS ADULTOS DE ARGENTINA
Pablo Martina, Fernando Mazur, Laura Cazzola, Claudia Prieto, Silvia Pérez, Marina Quiroga, Osvaldo Yantorno, Eusebia Valdez, Alejandra Bosch
Revista de Ciencia y Tecnología de la Facultad de Ciencias Exactas, Química y Naturales de la Provincia de Misiones Julio 2015
ISSN de la revista electrónica: 1851-7587
Este estudio surgió como una cooperación entre el CINDEFI, el Laboratorio de Genética de la Facultad de Ciencias Exactas, Química y Naturales de la Provincia de Misiones y el Hospital Rossi de La Plata.

-FERTILIZACIÓN ASISTIDA: APORTE SIGNIFICATIVO PARA MEJORAR LA EFECTIVIDAD DE IMPLANTACIÓN.
Cecilia Figolli, Osvaldo Yantorno y Alejandra Bosch
Materia Pendiente, La revista de Exactas de la UNLP Nº 24, pg 27-29. Noviembre 2015
http://www.exactas.unlp.edu.ar/articulo/2015/11/26/la_revista_de_exactas

MEDICINA 2.0
Alejandra Bosch. Claudia I. Prieto, María J. Palau, Marisa Bettiol, Patricia Montanaro, Mariana Leguizamón, Cintia Massillo, Cecilia Figoli, Brenda Valeiras, Fernando Rentería, Graciela Diez, Osvaldo M. Yantorno.
Revista Digital Extensionistas UNLP. Diciembre de 2015
http://www.extensionistas.unlp.edu.ar/articulo/2015/11/5/medicina_2_0
Luego de haber trabajado en conjunto, durante más de dos años, un grupo interdisciplinario de investigadores de la Universidad Nacional de La Plata, bioquímicos y médicos de hospitales públicos y centros de atención a pacientes con fibrosis quística y profesionales expertos en informática de la ciudad Autónoma de Buenos Aires, desarrollamos una base de datos que adquirió relevancia a nivel local por lo que fue de interés para nuestra Universidad divulgar nuestro resultado en esta nota denominada MEDICINA 2.0.

Participación en programas de TV

I. VISIÓN 7. NOTICIERO DE LA TV PÚBLICA ARGENTINA, Conferencista en más de 15 eventos en Universidad de La Plata: Avances en fertilización asistida. **Emitido 6 de junio de 2013.** http://www.youtube.com/watch?v=qGhfwHU9AS8.

ii. CAFÉ CON CIENCIA TV. Categoría Ciencia y tecnología Descripción sobre una nueva línea de investigación en torno a la fertilización asistida. **Emitido 27/05/2013**
http://www.youtube.com/watch?v=xHwjzyfQrWc

iii.-CIUDADANOS ILUSTRES. Programa televisivo conducido por el Dr. Oscar Vaudagna y realizado en el recinto del Concejo Deliberante emitido por canal 2 de Cablevisión (SLP) el **Emitido 27 de noviembre de 2015**
http://www.novalaplata.com/nota.asp?n=2015_11_27&id=42287&id_tiponota=11

12. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

a. Dirección y/o co-dirección de becarios doctorales

1. Becario: Lic. Gisele Kikot
   Tema: Caracterización mediante marcadores moleculares y espectroscopia infrarroja de aislamientos del hongo *Fusarium graminearum*
   Director: Teresa Alconada, Co-director: Alejandra Bosch
   Beca: CONICET, Período: 2008-2013

2. Becario: Lic. en Genética Pablo Martina
   Tema: Caracterización, discriminación e identificación de organismos de complejo *Burkholderia cepacia* aislados del tracto respiratorio de pacientes fibroquísticos mediante métodos moleculares y espectroscópicos vibracionales.
   Director: Osvaldo Yantorno; Co-director: Alejandra Bosch
   Beca: Beca Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Proyecto PICT 2005, No 34836
   Período 2009-2011 - CONICET- Tipo II (2011-2012)

3. Becario: Cecilia Beatriz Figoli
   Tema: Desarrollo de una metodología no invasiva basada en Espectroscopía Infrarroja, para la detección del potencial reproductivo de embriones previo a su transferencia en tratamientos de fertilización asistida
   Director: Alejandra Bosch
   Director Técnico: Marcelo Garcea (PREGNA, Medicina Reproductiva)
   Beca: CONICET- Cofinanciada con empresa Tipo I (2013-2017).

4. Becario: Lic. Mariana Leguizamón
   Tema: Formación de biofilm por aislados clínicos de *Burkholderia contaminans* recuperados de infecciones pulmonares crónicas de pacientes con fibrosis quística. Respuestas adaptativas asociadas a la persistencia.
   Director: Osvaldo Yantorno, Co-director: Alejandra Bosch
   Beca: CONICET- (2015-2017)

5. Becario: Daniela Soledad Casco
   Tema: Estudios de persistencia y mecanismos de adaptación de *Burkholderia contaminans* en tracto respiratorio de pacientes fibroquísticos con infección pulmonar crónica
   Director: Alejandra Bosch
   Beca: CONICET- (2016-2021).

b. Dirección de Becarios de Extensión Universitaria

1) Estudiante: Cintia Lorena Massillo

Becaria de Extensión del Programa de Salud de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP
Proyecto: Construcción de una base de datos virtual conteniendo información sobre características moleculares y sensibilidad a antimicrobianos de organismos patógenos circulantes en la región, en particular asociado a las infecciones de pacientes fibroquísticos.
Período: Mayo 2013-Marzo 2014
Director: Alejandra Bosch

2) Estudiante: Florencia Vignoles
Becaria de Extensión de la Universidad Nacional de La Plata.
Proyecto: Visualización y correlación de datos genéticos y fenotípicos de la microbiota de pacientes fibroquísticos almacenados en la base de datos "CFC database".
Período: Enero 2015-Julio 2016
Director: Alejandra Bosch

3) Estudiante Beltina León
Becaria de Extensión de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. Período: Marzo 2016-Diceembre 2016
Directo: Alejandra Bosch

13. DIRECCION DE TESIS. *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

a. Tesis Doctorales finalizadas y aprobadas

1. Título: Caracterización mediante marcadores moleculares y espectroscopia infrarroja de aislamientos del hongo *Fusarium graminearum*
Tesista: Lic. Gisele Kikot
Director: Teresa Alconada, Co-director: Alejandra Bosch
Doctorado presentado y aprobado en marzo de 2013.
Calificación: Sobresaliente (10). Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

2.- Título: Caracterización, discriminación e identificación de organismos de complejo *Burkholderia cepacia* aislados del tracto respiratorio de pacientes fibroquísticos mediante métodos moleculares y espectroscópicos vibracionales.
Tesista: Lic. en Genética Pablo Martina
Director: Osvaldo Yantorno, Co-director: Alejandra Bosch
Doctorado presentado y aprobado el 21 marzo de 2013.
Calificación: Sobresaliente (10). Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

b. Tesis Doctorales en curso

1. Título: Desarrollo de una metodología no invasiva basada en espectroscopía infrarroja, para la detección del potencial reproductivo de embriones previo a su transferencia en tratamientos de fertilización asistida
Tesista: Cecilia Beatriz Figoli
Director: Alejandra Bosch:
Director Técnico: Marcelo Garcea (PREGNA, Medicina Reproductiva)
Beca: CONICET- cofinanciada con empresa Tipo I (2013-2017).

2. Título: Formación de biofilm por aislados clínicos de *Burkholderia contaminans* recuperados de infecciones pulmonares crónicas de pacientes con fibrosis quística.. Respuestas adaptativas asociadas a la persistencia.
Tesista: Lic. Mariana Leguizamón
Director: Osvaldo Yantorno, Co-director: Alejandra Bosch
Beca: CONICET- (2015-2017)

3. Título: Estudios de persistencia y mecanismos de adaptación de *Burkholderia contaminans* en tracto respiratorio de pacientes fibroquísticos con infección pulmonar crónica
Tesista: Daniela Soledad Casco
Director: Alejandra Bosch
Beca: CONICET- (2019-2021).

3. Maestrías finalizadas

Estudiante: Corredor Moreno, Pilar
Beca de la Universidad Politécnica de Valencia, España.
Título: Detección directa y simultánea de microorganismos del Complejo *Burkholderia cepacia* y las especies *Pseudomonas aeruginosa* y *Achromobacter xylosoxidans* a partir de muestras obtenidas de pacientes con fibrosis quística.
Período: Julio –Diciembre 2013
Director: Alejandra Bosch-
Calificación evaluación final: Sobresaliente (10)

14. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS. *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

2013

1.- 6-7 de Agosto
Presentación Oral: PHENOTYPIC ADAPTATION OF *BURKHODERIA CEPACIA* COMPLEX BACTERIA DURING CHRONIC LUNG INFECTIONS IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS.
Pablo Martina, Claudia Prieto, Marisa Bettiol, Blanca Gatti, Patricia Monatanaro, Brenda Valeiras, Osvaldo Yantorno, Alejandra Bosch.
Publicado en libro de Resúmenes: Código FM-008. Páginas 17 -18
"IX Congreso de Microbiología General", organizado por la Sociedad Argentina de Microbiología General (SAMIGe) realizado en la Sede de Gobierno de la Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina.

2.- 6-8 de Septiembre
Participación y dictado de una conferencia por invitación.
Título: Fibrosis quística.
"I Congreso Nacional de Estudiantes de Ciencias Exactas" (ICoNECEx). Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, La Plata.

3.- 23 - 26 de septiembre
Presentación oral: EVALUCIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN AISLADOS CLÍNICOS LOCALES DEL COMPLEJO BURKHOLDERIA CEPACIA
Pablo Martina, Marisa Bettiol, Blanca Gatti, Brenda Valeiras, Patricia Montanaro, Claudia Prieto, Osvaldo Yantorno y Alejandra Bosch

XIII Congreso Argentino de Microbiología organizado por la Asociación Argentina de Microbiología (AAM), realizado en el Palais Rouge ciudad Autónoma de Buenos Aires.

4.- 22-23 Octubre

Participación y dictado de una conferencia por invitación: Insights into *Burkholderia cepacia* complex long-term infections through FT-IR spectroscopy.
Brenda Valeiras, Pablo Martina, Claudia Prieto, Osvaldo Yantorno, and Alejandra Bosch.
9th International Workshop FT-IR Spectroscopy in Microbiological and Medical Diagnostics, Robert Koch-Institute, Berlín, Alemania.

5.- 27 de Noviembre

Conferencista Título: *FT-IR spectroscopy applied to the characterization and identification of respiratory tract bacteria down to the strain level.*
"Seminar on Vibrational Spectroscopy Applied to the Analysis of Biological Samples" llevado a cabo en el Centro Científico Tecnológico CONICET - LA PLATA, Argentina el 27 de Noviembre de 2013.

2014

6 y7.- 11 al 14 junio 2014

Asistencia y presentación de dos Póster:
i) Hypermutation in *Burkholderia cepacia* complex is highly prevalent in chronic respiratory infections of cystic fibrosis patients
A. Bosch, P. Martina, S. Feliziani, C. Juan, M. Bettiol, B. Gatti, B. Valeiras, Yantorno, A. Smania, A. Oliver.
ii) *Burkholderia contaminans* in cystic fibrosis: genetic and phenotypic diversity among isolates from long-term infections.
A. Bosch, P. Martina, C. Prieto, B. Valeiras, M. Bettiol, P. Montanaro, O. Yantorno
"37th European Cystic Fibrosis Conference, organizada por la European Cystic Fibrosis Society en Gothenburg, Suecia.

8.- 2 - 4 Julio

-Presentación oral del trabajo: Detection of *Burkholderia cepacia* epidemic strain marker (BCESM) and the cable pilin subunit gene (cblA) in *Burkholderia contaminans* local isolates.
Claudia Prieto, Pablo Martina, Mariana Leguizamón, María Laura Cazzola, Fernando Rentería, Graciela Diez, Néstor Bitar, María Cristina de Rueda, Silvia S. Pérez, Alejandra Bosch y Osvaldo Yantorno. Código de Resumen: MM-030, Sección Microbiología Molecular.
"X Congreso Argentino de Microbiología General", organizado por la Sociedad Argentina de Microbiología General (SAMIGe) realizado en el Hotel 13 de Julio, Mar del Plata.

9 y 10.- 11-14 Agosto

-Presentación del poster: ¿NUEVO MIEMBRO PERTENECIENTE AL COMPLEJO *BURKHOLDERIA CEPACIA?*
Martina P, Montanaro P, Valeiras B, Jacome J, Ferreras J, Yantorno O y Bosch A.
-Presentación del poster: DISEÑO DE UNA BASE DE DATOS VIRTUAL INTERACTIVA PARA EL ALMACENAMIENTO Y MANEJO DE DATOS ASOCIADOS A ORGANISMOS PATÓGENOS EN LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA
Prieto Claudia, Massillo Cintia, Valeiras Brenda, Martina Pablo, Yantorno Osvaldo, Blanca Gatti, Marisa Bettiol, Patricia Montanaro, María Laura Cazzola, Silvia Susana

Perez, Fernando Rentería, Graciela Diez, Achiary Carlos, Achiary Andrés y Alejandra Bosch-

XV Jornadas Argentinas de Microbiología. Adelantos tecnológicos en el diagnóstico microbiológico, organizadas por la Asociación Argentina de Microbiología (AAM), llevadas a cabo en Córdoba. Argentina.

2015

11 y 12.- 20 y 21 Enero

Conferencias dictadas por invitación del Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN)

- "Vibrationnal spectroscopy applied to the study of biological material". Planta de Producción de Radioisótopos (PPR) en el Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN), Hurangal, Lima, Perú

- "Vibrationnal spectroscopy applied to characterization and identification of microbial clinical samples". Hospital San Borja, Lima, Perú

13 y 14.- 24-26 de abril

-Participación en mesa redonda: Laboratorio de Bacteriología. Complejo *Burkholderia cepacia* en el paciente con FQ. Grupo *Burlkolderia cepacia*.

-Presentación oral: Desarrollo de un Sistema informático para el manejo de datos clínicos y microbiológicos del paciente fibroquístico. Mariana Leguizamón, Claudia Prieto, María J. Palau, Pablo Martina Carlos Achiary, Andrés Achiary, Cintia Massillo, Cecilia Figoli, Marisa Bettiolb, Patricia Montanaro, María L. Cazzola, Silvia Perez, Fernando Rentería, Graciela Diez Osvaldo M. Yantorno y Alejandra Bosch*

III Congreso Argentino de Fibrosis Quística organizado por la Asociación de Profesionales Argentinos de en Fibrosis Quística realizado en Buenos Aires desde el 23 al 25 de abril de 2015 en el Hotel Sheraton de Buenos Aires.

15 y 16.- 5-7 Agosto

-Presentación del póster: Siderophore expresion increased biofilm formation in *Burkholderia contaminans.* Sección Fisiología Microbiana, FM013, página 8-9.
P. F. Martina, D. E. Galeano, C. I. Prieto, O. M. Yantorno, M. A. Bosch and J. A. Ferreras.

-Presentación del póster: *Burkholderia cepacia* EPIDEMIC STRAIN MARKER (BCESM) detected in *Burkholderia contaminans* isolates recovered from cystic fibrosis patients could be associated with transmissibility and persistence. Sección Microbiología Molecular, MM052, página 117.

Mariana Leguizamón, Claudia Prieto, Pablo Martina, Florencia Vignolles, Marisa Bettiol, Patricia Montanaro, María Laura Cazzola, Silvia Susana Perez, Osvaldo Yantorno y Alejandra Bosch

"XI Congreso Argentino de Microbiología General", organizado por la Asociación de Microbiología General (SAMIGe) realizado en Córdoba, Argentina.

17.- 15-16 Octubre

-Participación y dictado de una conferencia por invitación: Evaluation of the metabolomic fingerpint of human embryo-spent-culture media by FTIR spectroscopy: a non-invasive assessment of embryo for in vitro fertilization (IVF) technology
Cecilia Figoli, Marcelo Garcea, Mariana Gomez Peña, Claudio Biscioli, Fernando Althabe, Valeria Tafintseva, Volha Shapaval, Achim Kohler, Juergen Schmitt, Osvaldo Yantorno, Marcos Horton, and **Alejandra Bosch***

10th International Workshop FT-IR Spectroscopy in Microbiological and Medical Diagnostics, realizado en el Robert Koch-Institute, Berlín, Alemania.

18.- 20 de Noviembre
Presentación oral: Situación epidemiológica en un centro de Fibrosis Quística: Últimos 12 años.
Dalessadro Virginia, Gil María Florencia, Palau María Juliana, Bosch Alejandra, Bettiol Marisa
7mo Congreso Argentino de Neumonología Pediátrica organizado por la Sociedad Argentina de Pediatría en Mar del Plata del 19 al 21 de Noviembre de 2015.

15. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc*

.

a.- Curso de perfeccionamiento**: Basic Security in the field**.
Curso On-line con evaluación (10, Excelent)
Institución: United Nations Department of Safety and Security. Viena, Austria
Curso obligatorio de capacitación en seguridad dictado por Naciones Unidas para ser nombrada para dar un curso de Espectroscopía Infrarroja, como EXPERTA en la Instituto Peruano de Energía Nuclear de Lima, Perú. Diciembre 2014

b.- Visita al **Robert Koch Institute**, en el marco del Proyecto de **Cooperación Bilateral del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCyT) y el BMBF de Alemania** con el Center of Biological threats and special pathogens del Robert Koch Institute de Berlin. Título: Efecto de agentes antimicrobianos sobre la estructura y composición química de biofilms producidos por bacterias aisladas de infecciones pulmonares crónicas en pacientes fibroquísticos. Directores: Alejandra Bosch y Peter Lasch (contraparte de Alemania). Período: Octubre 2015

16. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO. *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

TEMA A: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y FENOTÍPICA DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS RECUPERADOS DE INFECCIONES PULMONARES CRÓNICAS DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

1. **Proyecto de Investigación y Desarrollo de Incentivos Docentes,** otorgado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata en el marco del Programa de incentivos. Título: Proyecto: "***Biofilms como sistema de estudio de aislados clínicos del complejo Burkholderia cepacia recuperados de infecciones pulmonares crónicas en pacientes con fibrosis quística".*** **Código**: **11/X657. Director: Osvaldo M. Yantorno. Co-directora: Alejandra Bosch.** Período 2013-2016. Monto total anual: $ 15.000.

2. **Proyecto de Extensión de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata** Área Salud y Diagnóstico. Título: *"**Caracterización de cambios fenotípicos asociados a la adaptación de organismos del Complejo Burkholderia cepacia durante la infección pulmonar crónica en pacientes fibroquísticos. Implicancias en la eficiencia del tratamiento antimicrobiano***". **Directora:** Alejandra Bosch. Subsidio: $6.000 y un cargo de Ayudante alumno por el período 2014-2016.

3. **Proyecto de Extensión de la Universidad Nacional de La Plata**- Área Salud. Título:"***Visualización y correlación de datos genéticos y fenotípicos de la microbiota de pacientes fibroquísticos almacenados en la base de datos "CFC database***" "**Directora:** Alejandra Bosch. Co-Director: Dr. Osvaldo Yantorno. Subsidio: $18.000 y un cargo de Becario Extensionista para un alumno de la Facultad para el período 2015.

4. **Proyecto Buenos Aires innovación, Diseño y Managment 2012**" otorgado por el Gobierno de La Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Convocatoria 2012: "Diseño y desarrollo de una base de datos virtual interactiva de actualización permanente que permita el almacenamiento y manejo de datos asociados al diagnóstico y tratamiento de pacientes fibroquístico. Proyecto conjunto entre el CINDEFI, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, el Hospital de Niños de La Plata Sor María Ludovica, Laboratorio de Bacteriología, e INFOCOM SA Laboratorio de Informática, Carlos Achiary – Universidad CAECE. **Directores:** Carlos Achiary, Dr. Osvaldo Yantorno y Dra. Alejandra Bosch. Subsidio: $20.000.

5. **Proyecto Conjunto de Investigación en el marco de Programas de Cooperación Bilateral del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCyT)** y **el BMBF** de Alemania con el Center of Biological threats and special pathogens del Robert Koch Institute de Berlin. Título: "***Cystic fibrosis respiratory infections:Antimicrobial agent effects in bacterial biofilms investigated by structurally and biochemically sensitive microscopy"***. **Directores**: Alejandra Bosch y Peter Lasch (contraparte Alemania). Período Junio 2015 – Mayo 2017.

TEMA B: APLICACIÓN DE ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) Y MÉTODOS MULTIVARIANTES APLICADOD AL ESTUDIO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS.

1. **Proyecto Internacional "Grant for Fertility Innovation", GFI-2012.** Otorgado por el Laboratorio Merck-Serono para el Proyecto: "***Fourier-Transform Infrared spectroscopy in metabolomics and its application to embryo assessment in IVF".*** El proyecto, basado en el desarrollo de una metodología no invasiva basada en espectroscopía infrarroja para evaluar el potencial reproductivo de embriones humanos en fertilización asistida, fue otorgado en la 28 sesión anual de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología en Estambul, Turquía, julio de 2012. Es un premio compartido por miembros de dos instituciones, CINDEFI, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP-CONÇICET y PREGNA Medicina Reproductiva, Centro Médico de fertilización asistida. **Autores: Osvaldo Yantorno, Alejandra Bosch, Marcos Horton, Marcelo Garcea. Premio: Euros 190.000 (**destinados a la adquisición y modernización del equipamiento). Con los fondos otorgados al CINDEFI se compró un equipo FTIR Bruker de última generación, que permite la lectura simultánea de 96 celdas.

2. **Proyecto ANR 800/2011** del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, Fondo Tecnológico Argentino (FONTAR), Convocatoria 2011. Proyecto aprobado **NA 183/11**: "**Diseño y Desarrollo de una Metodología no invasiva para la detección del potencial reproductivo de embriones humanos basada en Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier combinada con Redes Neuronales Artificiales**". Empresa: CENTRO DE FERTILIDAD BUENOS AIRES S.A. (PREGNA). Directores: Drs. Marcos Horton (PREGNA) y Osvaldo Yantorno (CINDEFI) . **Directoes Técnicos:** Dres. Marcelo Garcea (PREGNA) y Alejandra Bosch (CINDEFI). Monto aprobado por FONTAR: $ 798.000. Fondos Laboratorio CINDEFI: $ 395.000. Período: 2012-2015.

17. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO. *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

Subsidio para Asistencia a Reuniones Científicas y Tecnológicas ARCT 13/14. Me fueron otorgados 10.000 pesos para cubrir los gastos de traslado a Alemania para asisitr al Workshop: FT-IR Spectroscopy in Microbiological and Medical Diagnostics, realizado en Berlín en Octubre de ese año

18. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

1. **Premio Ciencia y Comunidad 2013. Dr. Pedro J. Carriquiriborde", en el Área Desarrollo Social, Trabajo y/o Salud-** Otorgado por la Comisión de Investigaciones Científicas CIC PBA, Ministerio de Producción, Ciencia y Tecnología de la Provincia de Buenos Aires. Distinción a la Dra. Alejandra Bosch y el grupo de trabajo del CINDEFI por el impacto de su investigación en la mejora de calidad de vida de la población de la provincia de Buenos Aires. Premio $ 50.000 (cincuenta mil pesos) y Diploma de Honor para el grupo de investigación. El premio fue otorgado el 20 de septiembre, 2013, en el Teatro Argentino de La Plata, en el marco del 1er Congreso Internacional Científico/tecnológico de la Provincia de Buenos Aires.

2. **Nominación internacional: EXPERTA de la *International Atomic Energy Agency (IAEA),* Viena, Austria**, Organismo Internacional de Energía Atómica. Tema: *FTIR Spectroscopy for characterization of cells, Scaffolds and Tissues*. Project and Task number: PER6017-08. Dfuty Station: Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN). Enero 2015. Premio: 7.400 dólares.
   Tuve a cargo el dictado de un curso de dos semanas para profesionales del mencionado instituto de Lima.

3. Premio **INNOVAR 2015**. Concurso Nacional de Innovaciones. Premio otorgado en el Concurso INNOVAR de la Secretaría de Planeamiento y Políticas de Ciencia e Investigación del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCyT). **Proyecto 18645: Redes Neuronales artificiales para evaluar la probabilidad de implantación de embriones en tratamientos de fertilización asistida**. Autores: Alejandra Bosch, Osvaldo Yantorno, Cecilia Figoli, Marcos Horton, Marcelo Garcea, Mariana Gomez Peña, Claudio Bisioli, Fernando Althabe y Luz Gibbons. Octubre 2015.

4. **Mención de Honor a la Innovación UNLP 2015**: Premio otorgado por la Universidad Nacional de La Plata en el marco de la entrega de los Premios a la "Labor Científica, Tecnológica y Artística", y a la "Innovación de la UNLP". Mensión de Honor a la Innovación: Desarrollo de un sistema informático multivariante basado en espectroscopía infrarroja para evaluar el potencial de implantación de embriones en tratamientos de fertilización asistida. 14 de Diciembre de 2015.

19. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA. *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

-Miembro de Comité e evaluación de trabajos del **III Congreso Argentino de Fibrosis Quística realizado en Buenos Aires d**el 24 al 26 del Abril de 2015

-Miembro fundador de la "International Society for Clinical Spectroscopy". La Sociedad Internacional de Espectroscopía Clínica (CLIRSPEC) es una organización

sin fines de lucro, constituida en el año 2015. En los últimos años se ha demostrado que las técnicas espectroscópicas moleculares tales como infrarrojo y Raman son capaces de distinguir las células o tejidos enfermos de no enfermos o discriminar bacterias, algas, hongos de diferentes especies, basados en la química inherente contenida dentro de los sistemas biológicos. Esta red internacional de socios fue creada para actuar como plataforma internacional para organizaciones que desean promover la aplicación de la espectroscopia en el ámbito de la microbiología y el diagnóstico clínico, en beneficio de los pacientes con el fin último de mejorar el diagnóstico y el pronóstico de infecciones microbianas o enfermedades.

-Participación como Coordinadora y Miembro fundador del "**Grupo de Trabajo *Burkholderia Cepacia*"** asociado a la Asociación Argentina de Microbiología (AAM), desde Diciembre de 2007.
El "**Grupo de Trabajo *Burkholderia Cepacia*"** constituye un ámbito científico auspiciado por la Asociación Argentina de Microbiología que promueve la difusión de la información necesaria para realizar y optimizar el aislamiento, la identificación fenotípica y molecular, formas de erradicación de organismos pertenecientes al Complejo *Burkholderia cepacia* y difundirla en la comunidad científica, hospitalaria en la industria y la sociedad. Los miembros y Coordinadores asisten a un taller de discusión sobre los temas de interés en Fibrosis Quistica en la sede de la AAM bimestralmente. El grupo de trabajo realiza reuniones bimestrales que se llevan a cabo en la sede de la AAM.

20. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO. *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

Profesor Adjunto, Dedicación Exclusiva, Área de Biotecnología**,** Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. (Cargo Interino), designación diciembre de 2014, Exp: 700-002459/140-0 002).
El tiempo dedicado a la Docencia es de 9 horas semanales. He dictado "Biofilms microbianos", materia optativa para las carreras de Biotecnología, Tecnología de los Alimentos y Bioquímica y Biología molecular, durante un cuatrimestre, e Ingeniería Bioquímica I, como materia obligatoria de la Carrera de Ingeniería Química en el otro cuatrimestre

21. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES. *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

1) Organización de eventos científicos

Organización de un SEMINARIO INTERNACIONAL "***Seminar on Vibrational Spectroscopy Applied to the Analysis of Biological Samples"***. *El Seminario* consistió en una jornada de trabajo sobre la aplicación de la espectroscopía infrarroja y espectroscopía Raman al estudio de muestras biológicas (proteínas, microorganismos, fluidos biológicos. Este evento se llevó a cabo el Noviembre 2013 en el Centro Científico Tecnológico CONICET - LA PLATA, Calle 8 No 1467 entre 62 y 63. Se contó con la participación especial del Profesor Dr. Dieter Naumann, uno de los científicos más reconocidos a nivel mundial por sus aportes a la espectroscopía infrarroja. El Dr. Naumann es investigador del Rober Koch Institute, Berlin, Germany.

2) Organización de cursos de post-grado

-Organización y dictado de un curso internacional de postgrado: "VIBRATIONAL SPECTROSCOPY APPLIED TO THE STUDY OF BIOLOGICAL SAMPLES" Dictado en el Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN) del 13 al 25 de Enero de 2015 (80 hs).
El curso fue auspiciado y patrocinado por la International **Agency of Atomic Energy, Viena, Austria**

-Organización y dictado del curso de postgrado "CURSO AVANZADO DE BIOFILMS MICROBIANOS".
Curso de posgrado de la Facultad de Ciencias Exactas destinado a alumnos de posgrado de Biotecnología, Tecnología de los alimnentos, Medio ambiente, y carreras afines. Curso teórico-práctico de 80 horas totales distribuidas en 6 horas semanales. **Marzo-Julio 2015 y Agosto – Diciembre 2015**

3) Evaluación de trabajos científicos:

-Journal of Microbiological Methods. Elsevier. Manuscript Number: MIMET-D-12-00014
-Mini-Review-Applied Microbiology and Biotechnology. AMAB-D-14-00979. 2014
-Journal of Biophotonics jbio.201500025
-Applied and Environmental Microbiology: EM07900-11.2015

22. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO. *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicite la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

A) Caracterización molecular y fenotípica de organismos del complejo *Burkholderia cepacia* recuperados de infecciones pulmonares crónicas en pacientes con fibrosis quística.

B) Empleo de métodos espectroscópicos vibracionales aplicados a la caracterización de sistemas biológicos.

Tema A)
Estudio de la variación genómica y cambios fenotípicos asociados a la adaptación y persistencia de B. contamians en la infección pulmonar crónica en pacientes con fibrosis quística

OBJETIVOS GENERALES

La principal causa de morbilidad y mortalidad en pacientes fibroquísticos es una progresiva enfermedad pulmonar causada por una bronquiectasia secundaria a la colonización con bacterias oportunistas (26,29). Estas infecciones producen en muchos casos la muerte prematura del paciente. Si bien *Pseudomonas aeruginosa* es considerado el patógeno prevalente en las vías aéreas de individuos con FQ, otros organismos son también capaces de colonizar el tracto respiratorio produciendo infecciones severas. Entre éstos, las bacterias pertenecientes al Complejo *Burkholderia cepacia* (CBc) constituyen agentes sumamente problemáticos (8,26) ya que pueden transmitirse fácilmente entre pacientes (2,29),

son multi-resistentes a antimicrobianos (24,46), y en algunos casos su presencia produce una neumonía necrotizante con marcada reducción en la expectativa de vida del individuo infectado (26). Si bien a nivel mundial de las 20 especies descriptas del CBc (29,48,62,63) *B. cenocepacia* and *B. multivorans* son las reportadas para el 80% de las infecciones producidas por bacterias del CBc (26), en estudios realizados en nuestro laboratorio demostramos que *B. contaminans* es la especie de mayor prevalencia en pacientes con FQ de nuestra región (33,36).

Las infecciones pulmonares derivan en la mayoría de los casos en procesos crónicos, que rara vez pueden ser controlados a pesar de tratamientos antimicrobianos intensivos. Durante estos procesos las bacterias deben desarrollar mecanismos de adaptación que les permitan persistir en un nicho muy hostil, caracterizado por la presencia de mucus, limitación de nutrientes, presencia de antimicrobianos y diferentes agentes asociados a la respuesta del hospedador. En el caso de *P. aeruginosa*, se ha reportado que durante la infección crónica estas bacterias emplean tres grandes estrategias de adaptación a nivel pulmonar: i) el **desarrollo de biofilm,** ii) la generación de **mutaciones adaptativas** produciendo diversificación fenotípica, y iii) el surgimiento de fenotipos **hipermutadores** (19,26,52,59). Los biofilms constituyen un importante rasgo patogénico en infecciones crónicas no sólo por facilitar la persistencia y mayor resistencia a agentes antimicrobianos y sistemas de defensa del hospedador (10,16,53a,60), sino por proveer diversificación fenotípica en la población sésil (21,48,59). En relación a las mutaciones adaptativas, los avances recientes en las tecnologías de secuenciación han permitido realizar extensos análisis de secuencias genómicas, y demostrar su rol en la adaptación de las bacterias durante la infección pulmonar crónica (3,18,35,39,69). En particular en *P. aeruginosa* se han identificaron mutaciones adquiridas durante infecciones crónicas, demostrando una constante evolución genética de estos organismos como resultado de fuertes presiones de selección del entorno.

La próxima etapa del proyecto tiene entonces como objetivos generales determinar si durante la infección crónica por *B. contaminans*, estas bacterias evolucionan genética y fenotípicamente en su hospedador, como adaptación a las presiones del entorno, y en tal caso buscar dilucidar de que manera. **Se buscará evaluar: i) en qué medida durante la infección crónica se modifican características fenotípicas de las bacterias que crecen en biofilm, en particular analizar el surgimiento de persistores, ii) los cambios genéticos que podrían surgir producto de la fuerte presión del entorno, y en caso afirmativo avanzar en el entendimiento de la "evolución" de estos organismos**. Se debe tener en cuenta que *B. contaminans,* fue descrita en 2009, por lo cual la información que se pretende adquirir a partir de este proyecto permitirá mejorar el entendimiento de la patogénesis y la naturaleza de la infección crónica, y además contar con las bases necesarias para adecuar las estrategias de control de infecciones en estos pacientes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Durante las infecciones pulmonares crónicas las bacterias que colonizan los pulmones de pacientes FQ sobreviven durante largos períodos de tiempo bajo una desafiante presión selectiva que incluye tanto la respuesta inmune del hospedador,

como los continuos tratamientos antimicrobianos destinados a removerlas. El objetivo general del presente proyecto que es avanzar en el estudio de las diferentes estrategias de adaptación que despliegan las bacterias que afectan al paciente con FQ durante la colonización crónica de sus pulmones: la formación de biofilm, el surgimiento de persistores y la generación de mutaciones adaptativas. Se realizarán estudios que nos permitan analizar la persistencia de los biofilms al ataque de los antibióticos. En infecciones crónicas por *E. coli, P. aeruginosa,* se demostró que una de las causas que no permite erradicar la infección, es el surgimiento de subpoblaciones de "persitores". Se ha podido establecer que bajo condiciones de stress, o ante exposiciones prolongadas con antimicrobianos surgen sub-poblaciones bacterianas tolerantes a antimicrobianos". Estas constituyen poblaciones "durmientes", inactivas ("dormant cells"), que persisten en un estado latente por largos tiempos. Estos persitores tienen la característica particular que la tolerancia a antimicrobianos no se debe a mutaciones genéticas que modifican su resistencia, sino que éstas constituyen variantes fenotípicas sobre las cuales la gran mayoría de los antimicrobianos que afectan células en crecimiento no pueden actuar. Este estado "durmiente" lleva al establecimiento de infección como infección crónica.

El presente plan de trabajo está centrado en las infecciones crónicas causadas por *B. contaminans*. Los organismos a emplear serán seleccionados del cepario del CINDEFI, que cuenta hoy con más de más de 200 aislados considerando aislamientos clínicos, ambientales y cepas de referencia, obtenidos a lo largo de más de 12 años (2003-2015). Para alcanzar el objetivo general se analizará comparativamente la evolución de aislamientos clínicos recuperados de diferentes pacientes obtenidos en el curso de la infección crónica y aislamientos recuperados de muestras ambientales (AMB). Se implementarán diferentes tecnologías de cultivos en biofilm, estudios de resistencia a antimicrobianos de células planctónicas y en biofilm (MIC Y MICB), análisis de persistores, y técnicas moleculares de amplificación de genes individuales, y secuenciación y análisis genómico. De alcanzar los objetivos del proyecto se podrá establecer las características fenotípicas y genéticas de los organismos que colonizan crónicamente las vías respiratorias de los pacientes FQ y su evolución adaptativa. Esto permitirá evaluar la eficacia de las actuales estrategias de control de estos organismos y proponer nuevas blancos terapéuticos para lograr su erradicación. **Los objetivos específicos son:**

1.-Analizar el surgimiento de persistores en aislamientos recuperados de infecciones pulmonares crónicas. Cuantificación de persitores. Desarrollo de curvas de persistencia

Se detectará el surgimiento de persistores enfrentando las poblaciones microbianas crecidas en biofilm a altas concentraciones de antimicrobianos. Se determinará el % de población bacteriana que persiste a diferentes concentraciones de ciprofloxacina (desde concentraciones cercanas a la inhibitoria mínima (MIC) hasta 500 veces la MIC). Empleando dichos resultados se construirán para cada aislamiento analizado la curva de persistencia (% de persistores Vs concentración de antibiótico).

Obtener curvas de persistencia para la cepa de referencia de *B. contaminans* (*B. contaminans* LMG 23361), para no menos de 10 aislamientos entre clínicos recuperados de pacientes con infección crónica y pacientes que han sido colonizados de de forma transiente por *B. contaminans*. Se analizará si el surgimiento de persistores está asociado al establecimiento de la infección crónica.

2.-Realizar un *screening* de la emergencia de persistores en la población de aislamientos recuperados de infecciones crónicas.
Llevar a cabo un *screening* sobre el surgimiento de persistores en aislamientos de *B. contaminans* recuperados de infección pulmonar crónica de diferentes pacientes con FQ, niños y adultos, con distinto tiempo de cronicidad (entre 1 y 10 años de infección crónica). La misma se evaluará, midiendo para los aislamientos seleccionados, el % de células que toleran concentraciones de ciprofloxacina de un valor de 4 y 128 veces la MIC. Se analizará si existe asociación entre el % de células persistoras y el tiempo de cronicidad de la infección crónica para diferentes pacientes.
3.- Estudiar posibles mecanismos que llevan a la persistencia
Analizar la presencia del operón (BCAM0257-8), como posible factor involucrado en la síntesis del sistema toxina/antitoxina reportado como uno de los mecanismos de persistencia en *B. cenocepacia*. Estudiar la posible relación entre la surgimiento de persistores y el establecimiento de la infección crónica por *B. contaminans* y la presencia del operán (asociados a la isla genómica BcenGI11)
4.- Secuenciar el genoma un set de 15 aislados de *B. contaminans* seleccionados entre los estudiados previamente, 10 provenientes de diferentes pacientes FQ, 2 aislados FQ- HM y 2 ambientales.
5.- Analizar las secuencias genómicas para los posteriores estudios evolutivos correspondientes. Se buscará establecer si existen patrones de modificación de genes que ocurran a lo largo de la infección crónica en distintos pacientes, lo cual permitirá identificar las presiones de selección que actuaron sobre estos patógenos en pulmones de pacientes individuales en el curso de la infección crónica.
6.- Comparar resultados obtenidos en tratamientos implementados en el hospital público con los resultantes del crecimiento en biofilm y los resultados que surgieran de los estudios de evolución adaptativa. Transferir conocimientos, proponer alternativas terapéuticas.

La formación de biofilms constituye una de las alternativas adoptadas por las bacterias para persistir y adaptarse al hostil entorno del hospedador y mantener su colonización por años. En caso de crecimientos en biofilm de diversos patógenos las células persistoras parecen ser responsables de del establecimiento de las infecciones crónicas. Los tratamientos con antimicrobianos eliminan gran parte de la población del biofilm; sin embargo, los persistores no son atacados, y permanecen "ocultos" en el biofilm hasta que las condiciones del entorno se modifiquen, el nivel de los antibióticos baja, y vuelvan a repoblar los biofilms. En este contexto del presente plan de trabajo analizaremos si los biofilms *de B. contaminans* están presentes los presistores y en tal caso si su existencia está asociada a los años de cronicidad de la infección.
Otra de las estrategias que se propone estudiar el presente proyecto es la de la adaptación por cambios genéticos que ocurren durante la infección crónica producto de la fuerte presión selectiva del entorno. En este sentido, se seleccionarán para estudios genéticos 15 aislamientos provenientes de 5 pacientes de los cuales se disponga entre 3 y 10 aislados recuperados durante la infección crónica con el mismo MLST durante el curso de la infección. Adicionalmente se secuenciará un aislamiento ambiental y por lo menos 2 aislamientos que presenten hipermutación. Para seleccionar los aislamientos a los que se les secuenciará su genoma se deberá llevar a cabo previamente la identificación a nivel de cepa según la base del MLST (http://pubmlst.org/bcc/) (1,14) sobre los aislamientos que aún no la tengan. Nuestro

laboratorio ha comenzado recientemente a implementar este sistema de identificación molecular.

El análisis del genoma completo permitirá realizar una reconstrucción de la historia de la evolución de diferentes clones (ST del MLST) y la identificación de "genes blanco" donde ocurren las mutaciones que llevan a la adaptación del patógeno en el entorno del hospedador. La identificación de tales genes "patoadaptativos" permitirá establecer cómo el patógeno evoluciona bajo las presiones selectivas del sistema inmune del hospedador y las terapias antimicrobianas. Del mismo modo, el análisis del genoma de los aislamientos FQ-HM permitirá establecer cuáles son los "genes blanco" para ese tipo de microorganismo que permitirían acelerar la evolución o seguir caminos evolutivos alternativos. Con toda la información adquirida se pretende identificar los genes importantes para la persistencia bacteriana en la infección crónica y tener conocimientos de los diferentes mecanismos mutacionales que rigen la adaptación por cambios genéticos, con el fin último de encontrar estrategias de erradicación de la infección crónica.

Es importante resaltar que de poder concretarse este proyecto, los resultados que se obtendrán serán de gran relavancia para el sector salud pública a nivel local, regional e internacional. A nivel local el Hospital de Niños de La Plata trata aproximadamente 900 pacientes fibroquísticos anualmente. Dentro de esta población, hay pacientes que de acuerdo al Servicio de Neumonología del hospital tienen entre 1 y 2 infecciones al año y en otros casos pacientes que mantienen una infección casi permanente durante todo el año. Por lo tanto estas investigaciones serán de gran beneficio para los mismos. Que el sector científico trabaje en directa colaboración con el hospital público para la búsqueda de soluciones a problemáticas de gran complejidad técnica, jerarquiza el trabajo y la misión de todos los agentes involucrados. La relevancia del problema la conocen perfectamente los pacientes y los servicios que tratan a los mismos. A nivel mundial las publicaciones, congresos y eventos en fibrosis quística son el mejor indicador de la relevancia del problema. Los costos de tratamiento e internaciones en muchos casos son importantes para el sector tanto público como privado. Este proyecto intentará estar a la altura de las necesidades que el hospital busca resolver y la mejor manera de hacerlo es compartiendo el trabajo con todos los actores interesados. Continuar con las investigaciones en curso es para nosotros y para el hospital que trata estos pacientes, un reaseguro en el sentido de que lo que produce la investigación llega a la comunidad.

REFERENCIAS

1. **Baldwin A., E. Mahenthiralingam, K. M. Thickett, D. Honeybourne, M. C. J. Maiden, J. R. Govan, D. P. Speert, J. J. Lipuma, P. Vandamme, C. G. Dowson, B. E. T. Al, and J. C. L. I. N. M. Icrobiol**. 2005. Multilocus Sequence Typing Scheme That Provides Both Species and Strain Differentiation for the Burkholderia cepacia Complex. Society 43:4665–4673.
2. **Baldwin A., P. A. Sokol, J. Parkhill, and E. Mahenthiralingam**. 2004. The Burkholderia cepacia Epidemic Strain Marker Is Part of a Novel Genomic Island Encoding Both Virulence and Metabolism-Associated Genes in Burkholderia cenocepacia. Society 72:1537–1547.
3. **Bernier S. P., M. L. Workentine, and M. G. Surette.** 2014. Genetic signature of bacterial pathogen adaptation during chronic pulmonary infections. Nature genetics. Nature Publishing Group 46:5–6.
4. **Bosch, A., Serra, D., Prieto, C., Schmitt, J., Naumann D. and Yantorno, O.** 2006.Characterization of *Bordetella pertussis* growing as biofilm by chemical analysis and FT-IR spectroscopy ***Applied Microbiology and Biotechnology***, **71:** 736-747.
5. **Bosch A., A. Miñán, C. Vescina, J. Degrossi, B. Gatti, P. Montanaro, M. Messina, M. Franco, C. Vay, J. Schmitt, D. Naumann, and O. Yantorno**. 2008. Fourier transform infrared spectroscopy for rapid identification of nonfermenting gram-negative bacteria isolated from sputum samples from cystic fibrosis patients. Journal of clinical microbiology 46:2535–46.
6. **Chung J. C. S., J. Becq, L. Fraser, O. Schulz-Trieglaff, N. J. Bond, J. Foweraker, K. D. Bruce, G. P. Smith, and M. Welch**. 2012. Genomic variation among contemporary Pseudomonas aeruginosa isolates from chronically infected cystic fibrosis patients. Journal of bacteriology 194:4857–66.
7. **Coenye T. O. M., P. Vandamme, J. R. W. Govan, and J. J. Lipuma**. 2001. Taxonomy and Identification of the Burkholderia Cepacia Complex. Society 39:3427–3436.
8. **Coenye T., and P. Vandamme**. 2003. Diversity and significance of Burkholderia species occupying diverse ecological niches. Environmental Microbiology 5:719–729.
9. **Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M., T. J. Marrie**. 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. Annu. Rev. Microbiol. 41:435-464.
10. **Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP**. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science. 21;284(5418):1318-22.
11. **Coutinho C. P., Carvalho C., Madeira A , Pinto-de-Oliveira A, and Sa´-Correia I.** 2011 *Burkholderia cenocepacia* Phenotypic Clonal Variation during a 3.5-Year Colonization in the Lungs of a Cystic Fibrosis Patient.Infection and Innunity 79:7, p. 2950

11a. Coutinho, C.P. dos Santos, S.,Madeira,A. Mira, N.P., , Moreira, A., Sá-Correia, I 2011. Long-term colonization of the cystic fibrosis lung by*Burkholderia cepacia* complex bacteria: epidemiology, clonal variation, and genome-wide expression alterations and genome-wide expression alterations. Front. Cell. Infect. Microbiol p 2-11.

12. **Craig, F.F., Coote, J.G., Parton, R., Freer, J.H., Gilmour, N.J**. 1989.A plasmid which can be transferred between Escherichia coliand Pasteurella haemolytica by electroporation and conjugation. Journal of General. Microbiology. 135, 2885–2890.
13. **D´allicourt C**. et al. (2007) APMIS 115, 311-318.
14. **Dalmastri, C. A**. 2007 Investigating Brukholderia cepacia complex populations recovered from Italian maize rhizosphere by multilocus sequence typing. *Environm. Microbiol.* 9: 1632-1639.

15. de Melker H. E. et al. *Emerg Infect Dis*. 2000. 6:348-57.

16. Donlan, R. M. and J. W. Costerton. 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 15: 167-193.

17. **Feliziani S., A. M. Luján, A. J. Moyano, C. Sola, J. L. Bocco, P. Montanaro, L. F. Canigia, C. E. Argaraña, and A. M. Smania**. 2010. Mucoidy, Quorum Sensing, Mismatch Repair and Antibiotic Resistance in Pseudomonas aeruginosa from Cystic Fibrosis Chronic Airways Infections. PloS one **5**.
18. **Folkesson A, Jelsbak L, Yang L, Johansen HK, Ciofu O, Høiby N, Molin S**. 2012. Adaptation of Pseudomonas aeruginosa to the cystic fibrosis airway: an evolutionary perspective. Nat Rev Microbiol. 10(12):841-51.

18.a **Govan, J. R., A. R. Brown, and A. M. Jones**. 2007. Evolving epidemiology of Pseudomonas aeruginosa and the Burkholderia cepacia complex in cystic fibrosis lung infection. Future Microbiol. 2:153–164

19. **Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley** P. 2004. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nat Rev Microbiol, 2:95–108.
20. **Heydorn A, Nielsen AT, Hentzer M, Sternberg C, Givskov M, et al**. (2000). Quantification of biofilm structures by the novel computer program COMSTAT. Microbiology 146(Pt 10): 2395–2407.
21. **Hansen S. K., M. H. Rau, H. K. Johansen, O. Ciofu, L. Jelsbak, L. Yang, A. Folkesson, H. Ø. Jarmer, K. Aanæs, C. von Buchwald, N. Høiby, and S. Molin**. 2012. Evolution and diversification of

Pseudomonas aeruginosa in the paranasal sinuses of cystic fibrosis children have implications for chronic lung infection. The ISME journal 6:31–45.

22. **Iqbal Z, Caccamo M, Turner I, Flicek P, McVean G**. 2012. De novo assembly and genotyping of variants using colored de Bruijn graphs. Nature Genetics. 44: 226–232.
23. **Jordá-Vargas L., J. Degrossi, N. C. Castañeda, M. D'Aquino, M. a Valvano, A. Procopio, L. Galanternik, and D. Centrón**. 2008. Prevalence of indeterminate genetic species of Burkholderia cepacia complex in a cystic fibrosis center in Argentina. Journal of clinical microbiology 46:1151–2.
24. **Leitão, J.H. et al.,** 2008. Variation of the antimicrobial susceptibility profiles of Burkholderia cepacia complex clonal isolates obtained from chronically infected cystic fibrosis patients: a five-year survey in the major Portuguese treatment center. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 27(11), pp.1101–11.

25a. **Lieberman, T.D. et al**. 2011. Parallel bacterial evolution within multiple patients identifies candidate pathogenicity genes. Nat. Genet. 43, 1275–1280.

25. **Lieberman T. D., K. B. Flett, I. Yelin, T. R. Martin, A. J. McAdam, G. P. Priebe, and R. Kishony**. 2014. Genetic variation of a bacterial pathogen within individuals with cystic fibrosis provides a record of selective pressures. Nature genetics. Nature Publishing Group 46:82–7.
26. **Lipuma J. J**. 2010. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. Clinical microbiology reviews 23:299–323.
27. **López-Causapé C., E. Rojo-Molinero, X. Mulet, G. Cabot, B. Moyà, J. Figuerola, B. Togores, J. L. Pérez, and A. Oliver**. 2013. Clonal dissemination, emergence of mutator lineages and antibiotic resistance evolution in Pseudomonas aeruginosa cystic fibrosis chronic lung infection. PloS one 8:e71001.
28. **Luján A. M., M. D. Maciá, L. Yang, S. Molin, A. Oliver, and A. M. Smania**. 2011. Evolution and adaptation in Pseudomonas aeruginosa biofilms driven by mismatch repair system-deficient mutators. PloS one 6:e27842.
29. **Mahenthiralingam, E., Baldwin, A.,Dowson, C. G**. 2008. Burkholderia cepacia complex bacteria: opportunistic pathogens with important natural biology. Journal of applied microbiology 104, 1539–51.
30. **Mahenthiralingam E., J. Bischof, S. K. Byrne, C. Radomski, J. E. Davies, and Y. Av-gay**. 2000. DNA-Based Diagnostic Approaches for Identification of Burkholderia cepacia Complex , Burkholderia vietnamiensis , Burkholderia cepacia Genomovars I and III. Society 38:3165–3173.
31. **Mahenthiralingam E., T. a Urban, and J. B. Goldberg**. 2005. The multifarious, multireplicon Burkholderia cepacia complex. Nature reviews. Microbiology 3:144–56.
32. **Maquelin, K., L. P. Choo-Smith, C. Kirschner, N. A. Ngo Thi, D. Naumann, and G. Puppels**. 2002. Vibrational spectroscopic studies of microorganisms, p. 1-27. *In* Handbook of Vibrational Spectroscopy. J. M. Chalmers and P. R. Griffiths (eds.), John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
33. **Martina P., M. Bettiol, C. Vescina, P. Montanaro, M. C. Mannino, C. I. Prieto, C. Vay, D. Naumann, J. Schmitt, O. Yantorno, A. Lagares, and A. Bosch**. 2013. Genetic diversity of Burkholderia contaminans isolates from cystic fibrosis patients in Argentina. Journal of clinical microbiology 51:339–44.

34. **Martina, P., Sofía Feliziani, Carlos Juan, Marisa Bettiol, Blanca Gatti, Osvaldo Yantorno, Andrea M. Smania, Antonio Oliver, Alejandra Bosch**. Hypermutation in *Burkholderia cepacia* complex is mediated by DNA mismatch repair inactivation and is highly prevalent in chronic infection in cystic fibrosis patients. *Aceptado en el International Journal of Medical Microbiology, Junio 2014*

35. **Marvig R. L., H. K. Johansen, S. Molin, and L. Jelsbak**. 2013. Genome analysis of a transmissible lineage of pseudomonas aeruginosa reveals pathoadaptive mutations and distinct evolutionary paths of hypermutators. PLoS genetics 9:e1003741.
36. **Miñán A. , Alejandra Bosch, Peter Lasch, , Maren Stämmler, Diego Omar Serra, José Degrossi, Blanca Gatti, Carlos Vay, Miguel D´aquino, Osvaldo Yantorno and Dieter Naumann.** 2009. Rapid identification of Burkholderia cepacia Complex species including strains of the novel Taxon K, recovered from cystic fibrosis patients by intact cell MALDI-ToF mass spectrometry .The Analyst. 134: 6, 1138 – 1148.
37. **Mira N. P., A. Madeira, A. S. Moreira, C. P. Coutinho, and I. Sá-Correia**. 2011. Genomic expression analysis reveals strategies of Burkholderia cenocepacia to adapt to cystic fibrosis patients' airways and antimicrobial therapy. PloS one 6:e28831.

38. M**oyano A. J., R. a Tobares, Y. S. Rizzi, A. R. Krapp, J. a Mondotte, J. L. Bocco, M.-C. Saleh, N. Carrillo, and A. M. Smania**. 2014. A long-chain flavodoxin protects Pseudomonas aeruginosa from oxidative stress and host bacterial clearance. PLoS genetics **10**:e1004163.

39. **Moyano A. J., and A. M. Smania**. 2009. Simple sequence repeats and mucoid conversion: biased mucA mutagenesis in mismatch repair-deficient Pseudomonas aeruginosa. PloS one **4**:e8203.

40. Moyano A. J., S. Feliziani, J. a Di Rienzo, and A. M. Smania. 2013. Simple sequence repeats together with mismatch repair deficiency can bias mutagenic pathways in Pseudomonas aeruginosa during chronic lung infection. PloS one **8**:e80514.

41. Moyano A. J., A. M. Luján, C. E. Argaraña, and A. M. Smania. 2007. MutS deficiency and activity of the error-prone DNA polymerase IV are crucial for determining mucA as the main target for mucoid conversion in Pseudomonas aeruginosa. Molecular microbiology **64**:547–59

41.a Moreira A.S. C P. Coutinho, P. Azevedo, L. Lito, J. M. Cristino, I. Sa-Correia. 2014. Burkholderia dolosa phenotypic variation during the decline in Lung function of a cystic fibrosis patient during 5.5 years of chronic colonization. J. Medical Microbiol. 63, 594–601

42. **Naumann, D.** 2000. Infrared Spectroscopy in Microbiology, p. 1-29. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. *In* Encyclopedia of Analytical Chemistry. R.A. Meyers (ed.) John Wiley & Sons Ltd, Chichester.

43. **Naumann D.** 2001. FT-infrared and FT-Raman Spectroscopy in biomedical research., p. 323–377. In I.H.-U.G. and B. Yang (ed.), New York, NY.

44. **Nguyen, D., Singh, P. K**. 2006. Evolving stealth: genetic adaptation of Pseudomonas aeruginosa during cystic fibrosis infections. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 103, 8305–6.

45. **Nørsko_uvritsen N, Johansen HK, Mette G, Nielsen XC, Pressler T,Hanne V, Høiby N, Fenger M, Olesen HV**. 2010. Unusual distribution of Burkholderia cepacia complex species in Danish cystic fibrosis clinics may stem from restricted transmission between patients. J. Clin. Microbiol. 48:2981–2983.

46. **Nzula, S.,** 2002. Influence of taxonomic status on the in vitro antimicrobial susceptibility of the Burkholderia cepacia complex. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50(2), pp.265–269.

47. **Oliver, A & Mena, A**, 2010. Bacterial hypermutation in cystic fibrosis, not only for antibiotic resistance. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 16(7), pp.798–808.

48. **Oliver, A. et al.**, 2000. High Frequency of Hypermutable Pseudomonas aeruginosa in Cystic Fibrosis Lung Infection. *Science*, 288(5469), pp.1251–1253.

49. **Oliver, A., Baquero, F. & Blázquez, J.,** 2002. The mismatch repair system (mutS, mutL and uvrD genes) in Pseudomonas aeruginosa: molecular characterization of naturally occurring mutants. *Molecular microbiology*, 43(6), pp.1641–50.

50. **O'Toole, G., Kaplan, H. B. and R. Kolter**. 2000. Biofilm formation as microbial development. Annu. Rev. Microbiol. 54: 49-79.

51. **Peeters C., J. E. a Zlosnik, T. Spilker, T. J. Hird, J. J. LiPuma, and P. Vandamme.** 2013. Burkholderia pseudomultivorans sp. nov., a novel Burkholderia cepacia complex species from human respiratory samples and the rhizosphere. Systematic and applied microbiology. Elsevier GmbH. 36:483–9.

52. **Rau M. H., S. K. Hansen, H. K. Johansen, L. E. Thomsen, C. T. Workman, K. F. Nielsen, L. Jelsbak, N. Høiby, L. Yang, and S. Molin.** 2010. Early adaptive developments of Pseudomonas aeruginosa after the transition from life in the environment to persistent colonization in the airways of human cystic fibrosis hosts. Environmental microbiology 12:1643–1658.

53. **Saiman, L., and J. Siegel**. 2004. Infection control in cystic fibrosis. Clin. Microbiol. Rev. 17:57-71.

53 a Sanchez C.J.K. Mende, M. L. Beckius, K. S. Akers, D. R. Romano, J. C Wencke and C K. Murray. 2013. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. BMC Infectious Diseases 13:470.

54. **Sass A. M., C. Schmerk, K. Agnoli, P. J. Norville, L. Eberl, M. a Valvano, and E. Mahenthiralingam.** 2013. The unexpected discovery of a novel low-oxygen-activated locus for the anoxic persistence of urkholderia cenocepacia. The ISME journal. Nature Publishing Group 7:1568–81.

55. **Schmitt, J., and T. Udelhoven**. 2001. Use of artificial neural networks in biomedical diagnosis, p. 379-419. In Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Material. H.-U. Gremlich and B. Yang (eds.), Marcel Dekker, Inc., New York.

56. **Serra, Alejandra Bosch, Daniela Russo, María E. Rodríguez, Ángeles Zorreguieta, Juergen Schmitt, Dieter Naumann and Osvaldo Yantorno**. 2007. Continuous non-destructive monitoring of Bordetella

pertussis biofilms by spectroscopy and other corroborative techniques.Analytical and Bioanalytical Chemistry, 387: 1759-1767

57. **Serra D., Luecking G., Weiland F., Schulz S., Görg A., Yantorno O. M., Ehling-Schulz M.** 2008. Proteome approaches combined with Fourier transform infrared spectroscopy revealed a distinctive biofilm physiology in Bordetella pertussis. Proteomics. 8, 23-24: 4995-5010.
58. **Smania A. M., Segura I, Pezza RJ, Becerra C, Albesa I. A., Argaraña C.E.** 2004. Emergence of phenotypic variants upon mismatch repair disruption in Pseudomonas aeruginosa. Microbiology 150:1327–1338.
59. **Smith E. E., D. G. Buckley, Z. Wu, C. Saenphimmachak, L. R. Hoffman, D. a D'Argenio, S. I. Miller, B. W. Ramsey, D. P. Speert, S. M. Moskowitz, J. L. Burns, R. Kaul, and M. V Olson.** 2006. Genetic adaptation by Pseudomonas aeruginosa to the airways of cystic fibrosis patients. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 103:8487–92.
60. **Sutherland, I. W.** 2001. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. Microbiology. 147
61. **Tomlin K. L., S. R. D. Clark, and H. Ceri**. 2004. Green and red fluorescent protein vectors for use in biofilm studies of the intrinsically resistant Burkholderia cepacia complex. Journal of microbiological methods 57:95–106
62. **Torres Tejerizo, G. Del Papa, M. F., Draghi, W. O., Lozano, M. J., Giusti, M. A., Martini, M. C. Salas, M. E., Salto, I., Wibberg, D., Szczepanowski, R., Weidner, S., Schlüter, A., Pühler, A., Lagares, A., y Mariano Pistorio**. 2011 .First genomic analysis of the broad-host-range Rhizobium sp. LPU83 strain, a member of the low-genetic diversity Oregon-like Rhizobium sp. group. J. Biotechnol. 155:3-10
63. **VandenBranden, S. L., McMullen, A., Schechter, M. S., Pasta, D. J., Michaelis, R. L., Konstan, M. W., Wagener, J. S., Morgan, W. J., McColley, S. A. and for the Investigators and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis**. 2012. Lung function decline from adolescence to young adulthood in cystic fibrosis. Pediatr. Pulmonol.47: 135–143.
64. **Vanlaere E., A. Baldwin, D. Gevers, D. Henry, E. De Brandt, J. J. LiPuma, E. Mahenthiralingam, D. P. Speert, C. Dowson, and P. Vandamme**. 2009. Taxon K, a complex within the Burkholderia cepacia complex, comprises at least two novel species, Burkholderia contaminans sp. nov. and Burkholderia lata sp. nov. International journal of systematic and evolutionary microbiology 59:102–11.
65. **Vanlaere E., J. J. Lipuma, A. Baldwin, D. Henry, E. De Brandt, E. Mahenthiralingam, D. Speert, C. Dowson, and P. Vandamme**. 2008. Burkholderia latens sp. nov., Burkholderia diffusa sp. nov., Burkholderia arboris sp. nov., Burkholderia seminalis sp. nov. and Burkholderia metallica sp. nov., novel species within the Burkholderia cepacia complex. International journal of systematic and evolutionary microbiology 58:1580–90.

    Vermis, K., T. Coenye, E. Mahenthiralingam, H. J. Nelis, and P. Vandamme. 2002. Evaluation of species-espcific recA-based PCR tests for genomovar level identification within the Burkholderia cepacia complex. J. Med. Microbiol. 51: 937-940.
66. **Wibberg, D., Torres Tejerizo G. A., Del Papa M. F., Martino C., Pühler A., Lagares A., Schlüter A., y Pistorio M.** 2014.Genome sequence of the acid-tolerant strain *Rhizobium* sp. LPU83. J. Biotechnol. 176C:40-41
67. **Wilson DJ**. 2012. Insights from Genomics into Bacterial Pathogen Populations. PLoS Pathogen 8(9): e1002874.

Condiciones de la presentación:

A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
   a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 22).
   b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período .....".
   c. Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.

B. Envío por correo electrónico:
   a. Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: infinvest@cic.gba.gob.ar (puntos 1 al 22), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
   b. En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

C. Sistema SIBIPA:
   a. Se deberá peticionar el informe en la modalidad on line, desde el sitio web de la CIC, sistema SIBIPA (ver instructivo).

Nota: El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.