

Curso:
Herramientas moleculares para la identificación y caracterización de hongos y levaduras

Fecha: 28 de mayo al 1º de junio de 2018.

Horario: lunes a viernes de 9 a 13 hs. y 14 a 18 hs.

Horario: Aula Píriz Mc Coll, Instituto de Química, Facultad de Química (General Flores 2124).

Docentes coordinadores: Dras. Silvana Vero y Gabriela Garmendia

Docentes Participantes:

Dra. Silvana Vero, Dra. Gabriela Garmendia, B.C. Adalgisa Martínez, Dra. Silvana Alborés, Ing. Alim Eloisa Arrarte, T.Q. Angie Álvarez, Lic. Quím. Soledad Martínez, B.C. Belén Estévez, Área Microbiología, Depto. de Biociencias, Facultad de Química, Udelar.

Dra. Caterina Rufo, Alimentos y Nutrición, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Udelar.

Dra. Patricia Perera, Dra. Zaida Arteta, Departamento de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Udelar.

Dra. Claudia Etchebehere, Lic. MSc. Leonardo Delgado, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.

Dra. Angélica Ganga, Laboratorio de Microbiología Aplicada, Decytal, Universidad de Santiago, Chile.

Dra. Ivana Cavello, Laboratorio de Enzimas Microbianas, Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), La Plata, Argentina.

Destinatarios: egresados de Química, Agronomía, Lic. en Bioquímica o Biología.

Objetivo: discutir y analizar la utilidad de las herramientas moleculares para la identificación y caracterización de hongos filamentosos y levaduras. Abarcar los principios básicos sobre identificación y tipificación molecular de hongos, la descripción y utilidad de los métodos utilizados.

Programa:

Día 1

- Principios básicos sobre identificación molecular de hongos.
- Identificación a nivel de especie:
 - Regiones génicas utilizadas para la identificación.
 - Bases de datos de secuencias.
 - Análisis multigénico en la determinación de especies fúngicas.
 - Identificación polifásica. Bases de datos.
 - Uso de *primers* específicos para identificación de especie.
 - Pasos del análisis molecular:
 - Extracción de ADN de hongos filamentosos y levaduras.
 - Purificación de ADN. Amplificación de regiones de interés.
 - Determinación de la calidad y cantidad del ADN obtenido (compara Qbit y nanodrop).
 - Secuenciación (de un amplicón y masiva).
 - Presentación de casos prácticos.

Día 2

- Comparación de diferentes métodos para extracción de ADN de la muestra problema.
- Visualización (Electroforesis) y cuantificación de ADN (Qubit, Nanodrop) del ADN extraído.
- Amplificación de la región seleccionada para identificar el hongo problema.
- Observación de los geles de ADN y de productos de PCR obtenidos por los diferentes grupos. Visualización, estimación del tamaño molecular y cuantificación de los amplicones obtenidos. Análisis de secuencias (purificación de secuencias, comparación con base de datos).
 - Búsqueda de secuencias tipo. Trabajo con las secuencias de cada grupo.
 - Utilización de programa Mega.
 - Construcción de árboles filogenéticos. Construcción del árbol filogenético correspondiente a la muestra problema.

Día 3

- RFLP. Uso de programas para análisis de restricción (Webcutter, Nebcutter).

- Uso de RFLP en identificación de levaduras.
- Utilidad del RFLP en el estudio de la muestra problema.
- Trabajo práctico sobre RFLP.
- Uso y diseño de *primers* específicos en identificación de hongos y levaduras.
- Tipificación: subespecie, quimiotipo, cepa. Métodos: RAPD, AFLP. Microsatélites, RFLP mitocondrial.

Día 4

- Visualización de gel de RFLP e identificación de las levaduras (en pantalla y papel a cada uno. Cálculo de tamaños).
- Cuantificación de hongos por PCR en tiempo real.
- Planteo de situación problema, pasos del método, análisis de curvas. Video.
- Casos aplicados
 - Uso de PCR en tiempo real para cuantificar *A. flavus* en silos de sorgo.
 - Identificación molecular de *Sporothrix* spp aisladas de casos clínicos y de ambiente.
 - Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de ración destinada al alimento de aves de corral.

Día 5

Mañana

Presentación grupal del trabajo práctico y discusión de resultados.

Tarde

Prueba teórica.

Práctico

El curso práctico consiste en la resolución de una situación problema. Se plantearán 5 situaciones problema que consistirán en identificar un hongo problema, dentro de un contexto que limitará las especies a las cuales pueda pertenecer. Los estudiantes deberán proponer los métodos moleculares adecuados para la resolución del problema, discutirlos y llevar a cabo en forma práctica el método más adecuado.

Cada subgrupo de 6 estudiantes será guiado por un docente.

Las situaciones problema serán:

1. Identificación a nivel de especie de un aislamiento de *Pleurotus*.
2. Identificación a nivel de especie de un aislamiento de levadura proveniente de la Antártida.
3. Identificación a nivel de especie de un aislamiento de *Penicillium* causante de moho azul en manzana.
4. Identificación de un aislamiento de levadura proveniente de un hemocultivo.
5. Identificación a nivel de especie de un aislamiento de *Fusarium* patógeno de trigo.

Costo: \$3.600

La matrícula se debe abonar en la Sección Tesorería de la Facultad de Química (Isidoro de María 1614 planta baja, de lunes a viernes de 10 a 13 hs.), o realizando depósito en el BROU (Cuenta Corriente N° 1840015257); el comprobante se debe enviar por correo electrónico a ep@fq.edu.uy.

INSCRIPCIONES:

Completando la siguiente ficha de inscripción: <http://www.fq.edu.uy/node/631>.