CHILENA

ASOCIACION DE MICROBIOLOGIA

1966

XIX CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGIA

PROGRAMA Y RESUMENES

Asociación Chilena de Microbiología
Filial ACHM, V Región Valparaíso-Viña del Mar

Julio 1997

XIX CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGIA

PROGRAMA Y RESUMENES

ASOCIACION CHILENA DE MICROBIOLOGIA
FILIAL ACHM V REGION VALPARAISO-VIÑA DEL MAR

Con el Auspicio de la
UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

DIRECTIVA NACIONAL
ASOCIACION CHILENA DE MICROBIOLOGIA

	1995 - 1997	1997 - 1999
Presidente	**Luis F. Avendaño**	**Eugenio Spencer**
Past President	**Manuel Rodríguez**	**Luis F. Avendaño**
Vicepresidente	**Raúl Zemelman**	**Abel Arrieta**
Secretaria	**Mercedes Zaldívar**	**Matilde Jashes**
Tesorero	**Bernardo González**	**María Teresa Ulloa**
Protesorero	**Eliana Canelo**	**María Cristina Díaz**
Directores	**Eduardo Agosín**	**Margarita Caru**
	Christal Julliet	**Bernardo González**
	Stella Riedeman	**Ingrid Heitmann**
	María Teresa Ulloa	**Mercedes Zaldívar**

DIRECTIVA FILIAL ACHM
VALPARAISO - VIÑA DEL MAR

Presidente	**Victoriano Campos**
Secretario	**Eduardo Piontelli**
Tesorero	**Ema Navarrete**

COMISON ORGANIZADORA XIX CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGIA

Presidente	**Victoriano Campos**
Secretarios	**Eduardo Piontelli, Eliana Canelo**
Tesorero	**Ema Navarrete**
Colaboradores	**Sandra Lisperguer, Sergio Cantarero**

COMITE CIENTIFICO

Fernando Acevedo

Victoriano Campos

Eliana Canelo

Juan Kuznar

Ema Navarrete

Eduardo Piontelli

James Robeson

Con el Patrocinio de :

Pontificia Universidad Católica de Chile

Universidad Austral de Chile

Universidad de Chile

Universidad de Concepción

Universidad de Los Lagos

Universidad de Playa Ancha de Ciencias de la Educación

Universidad de Talca

Universidad de Valparaíso

INDICE GENERAL

Programa 15

Resumenes Conferencia:

«*E coli* ENTEROPATOGENICA EPEC - BACTERIOLOGIA PATOGENICIDAD - DIAGNOSTICO Y EPIDEMIOLOGIA» 21
Dr. Luiz Trabulsi ; Universidad de Sao Paulo -Brasil

«EMERGENCIA DEL SINDROME PULMONAR PROVOCADO POR HANTAVIRUS EN AMERICA» 22
Dr. Mario Lozano; Universidad Nacional de Quilmes -Argentina

«ORIGENES Y EVOLUCION DE LOS ECOSISTEMAS PROCARIOTICOS» 23
Dr. Ricardo Guerrero, Universidadde Barcelona -España

Resumenes de trabajos de incorporación:

«Caracterización genética de cepas de *Streptococcus pneumoniae* mediante electroforesis de campo pulsado» 27

«Mapeo de mutaciones de *Salmonella typhi* mediante su transferencia al cromosoma de *Salmonella typhimurium*» 27

«Detección de excreción asintomática de Virus Herpes Simplex (HSV) en pacientes con patología Ocular Herpética.» 28

«Aislamiento y Caracterización de Bacteriofagos de *Vivrio spp.* provenientes de ambientes acuáticos y moluscos bivalvos» 28

«Bacterias Termófilas Hidrocarbonoclásticas en Ambientes Eulitorales no Termales» 29

«Estudio de protección de dos vacunas comerciales frente a una cepa de virus de Bursitis Infecciosa Aviar» 29

Resúmenes de Posters:

Nº	TITULO	PAG
MICROBIOLOGIA BASICA		
1.-	Efecto del suministro de dióxido de carbono en el crecimiento de *Thiobacillus ferroxidans*	33
2.-	Evaluación de plásmidos reconvinantes como vectores de integración en líneas celulares de peces	34
3.-	Efecto de la temperatura y disponibilidad de oxigeno sobre la biosíntesis del LPS de *Salmonella typhi*	34
4.-	Estrategias para determinar la potencialidad inmunogénica de *Psciriketsia salmonis*	35
5.-	Características bacteriológicas de bacteriocinas PsVP-10 aisladas de *Pseudomonas sp.*	35
6.-	Comparación entre el perfil polipeptídico de bacterias Halófilas y plantas tolerantes a estres salino	36
7.-	Transferencia de resistencia a agentes antimicrobianos en bacterias coliformes aisladas de aguas servidas tratadas.	36
8.-	Plasmidios naturales conjugativos en cepas de S*almonella paratyphi* B y su potencial de transmisión lateral	37
9.-	Transmisión de marcadores de resistencia a oxitetraciclina desde enterobacterias hacia bacterias marinas	37
10.-	Inmunización con SOD de *Brucella abortus*; clonada y expresada en ***E. coli*** protege contra el desafio con la cepa silvestre	38
11.-	Fenotipos multienzimáticos de cepas de ***Frankia*** aisladas de plantas Actinorricicas Sudamericanas.	38
12.-	Resistencia a Fitopatógenos inducida en plantas por bacterias Gram-Positivas	39
13.-	Estudio de la relación entre proteínas de la membrana externa de ***Salmonella typhi*** inducidas en anaerobiosis y el proceso de invasión a células epiteliales humanas.	39
14.-	Aislamiento de mutantes auxotróficas de ***Phaffia rhodozyma*** mediante enriquecimiento con Nistatina.	40
15.-	Desarrollo de sistemas de vectores plasmidiales para expresión de antígenos de ***Helicobacter pylori*** cepas de ***E. coli. y Salmonella.***	40

16.- Interacción de ***Aleromonas atlantica*** con iones metálicos. 41

17.- Inserción cromosomal del cassette génico *tfd*CDEF de *Ralstonia eutropha* JMP 134 (pJP4) permite la degradación de clorocatecoles en *Pseudomonas putida.* 41

18- Resistencia a aminoglicosidos en cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas en Concepción 42

MICROBIOLOGIA MEDICA HUMANA Y VETERINARIA:

19.- *E. **Coli*** aislada de cerdo. Cepas productoras de hemolisinas y su relación con la síntesis de toxinas 43

20.- Infección Intrahospitalaria por Adenovirus 7H. 44

21.- Prevalencia de ***S. aureus*** meticilino resistente en cepas aisladas de pacientes hospitalizados en el Hospital Base de Valdivia durante el segundo semestre de 1995 44

22.- Estudio comparativo de la suceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de ***E.coli*** de distinto origen. 45

23.- Pacientes con Rinitis en CONIN 45

24.- Adherencia de ***Campylobacter jejuni y Campilobacter coli*** de diversos orígenes a células Hep-2 46

25.- Preparación de antígenos para la detección de anticuerpos contra la citotoxina vacuolizante de ***Helicobacter pylori.*** 46

26.- Estudio de la resistencia a la actividada bactericida del suero humano en *Acinetobacter baumannii* 47

27.- Mecanismo de adherencia de *Acinetobacter baumannii* a tejido de traquea de rata 47

28.- Respuesta inmune celular inducida por proteínas de B*rucellas abortus* cepa RB 51 48

29.-Evaluación de protección vaccinal de Bursitis infecciosa Aviar usando índice R_{bo} y procesamiento de imágenes 48

30.- Caracterización del patotipo de dos cepas de virus de la enfermedad de New Castle (ENC) 49

31.- Adherencia de *Acoinetobacter baumannii* de diferentes biotipos a tejido vesical de rata 49

MICROBIOLOGIA AMBIENTAL

32.- Capacidad antagónica de la flora microbiana silvestre aislada en la columna de agua y sedimento del Lago Yelcho. 51

33.- Aislamiento y caracterización de sustancias bactericidas producidas por un *Vibrio* marino. 52

34.- Incorporación de ***Vibrios*** productores de antibacterianos en el cultivo de microalgas utilizadas como alimento en acuicultura. 52

35.- Efecto de quemas controladas sobre propiedades microbiológicas en un suelo forestal de la VII Región 53

36.- Estudio comparativo de Coliformes Fecales y Colifagos en aguas servidas tratadas. 53

37.- Estabilidad de gránulos anaerobios en el tratamiento de aguas residuales. 54

38.- Evaluación del comportamiento inicial de un vertedero piloto operado con recirculación de lixiviado tratado mediante digestión anaerobia 54

39.- Determinación en aguas servidas de bacterias cultivables y no cultivables por recuento directo de epifluorescencia 55

40.- Caracterización microbiológica de residuos industriales líquidos. 55

41.- Bioremoción de Cadmio por una cepa de *Pseudomonas sp* 56

42.- Caracterización de bacterias fototróficas anoxigénicas aisladas de ambientes hipersalinos 56

43.- Efectos del tratamiento de aguas servidas en la composición de especies de recistencia a los antibióticos de bacterias coliformes 57

MICOLOGIA

44.- Microhongos de la Patagonia Chilena, algunos *Ascomycetes* coprófilos 59

45.- Estudio taxonómico y enzimático cualitativo de ***Deuteromycetes y Zigomycetes*** aislados de aserrín de ***Pinus radiata*** depositado a la interperie en el aserradero de Vista Alegre, Valdivia. 60

46.- Aislamiento y Caracterización enzimática cualitativa de cepas miceliales obtenidas desde Basidiocarpos de *Agaricales* de madera. 60

47.- ***Penicillium restrictum*** : un antagonista de patógenos vegetales. 61

48.-Enzimas hidrolíticas y antibióticos en el antagonismo de ***Trichoderma spp.*** contra patogenos vegetales. 61

49.- Viabilidad de *Dermatofitos* en muestras clínicas almacenadas. 62

50.- Onicomicosis en diabéticos 62

51.- Higiene en Hongos comestibles deshidratados (***Suillus luteus)*** en secador piloto 63

52.- Flora fungosa asociada a quistes y huevos de ***Heterodera trifolii*** Goffart. 63

VIROLOGIA

53.- Estrategias de clonamiento del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) 65

54.- Implementación de una técnica rápida de aislamiento de Adenovirus 66

55.- Miristilación de proteínas en el virus de la necrosis pancreática infecciosa. 66

56.- Inmunolocalización diferencial de las proteínas estructurales del virus IPN. 67

57.-Detección del virus de la necrosis infecciosa (IPNV) mediante ensayo de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales. 67

58.- Caracterización morfológica y molecular de un micovirus de ***Botritis cinerea.*** 68

59.-Aplicación de la antigenemia en el diagnóstico de Infección/Enfermedad por Citomegalovirus (CMV) 68

60.- Selectividad celular en la transformación de los virus Papiloma Humanos (HPV) tipos 16 y 18. 69

MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

61.- Aplicación de la técnica de separación Inmunomagnética al aislamiento de *Salmonella spp.* de harina de pescado. 71

62.- Hongos filamentosos contaminantes de superficies de diferentes frutas deshidratadas de venta libre en Santiago de Chile 72

63.- Monitoreo microbiológico de productos lácteos en la región Metropolitana entre 1991 y 1994 72

64.- Estabilidad microbiológica y físico organoléptica en especies Salmonídeas sometidas a congelación a -18º C 73

65.- Detección de ***Listeria monocyto genes*** mediante metodología simplificada 73

MICROBIOLOGIA AGRICOLA

66.- Encapsulamiento de cepas de *Rhizobium* en matrices de Alginato para la producción de bioinoculantes para leguminosas forrajeras. 75

67.- Encapsulamiento de una cepa mutante de *Bacillus spp.* para el control biológico de *Botrytis cinerea* 76

68.- Formulación de células de una cepa de *Serratia liquefaciens* en matrices de Alginato de sodio para el control biologíco de *Rhizotocnia solani.* 76

MICROBIOLOGIA EN BIOPROCESOS

69.- Síntesis de antibioticos B-lactámicos con penicilina acilasa de *Bacillus megaterium* 77

70.- Efecto desinfectante del ácido láctico 78

71.- Evaluación de la actividad germicida del extracto de semilla de toronja 78

72.- Actividad bactericida del ácido kaurenoico sobre B*acillus cereus* y otras cepas gram positivo 79

73.- Estudio preliminar de hongos de pudrición blanca para la decoloración de efluentes 79

74.- Uso de catalizadores en la biolixiviación de Enargita 80

75.- Utilización de antioxidantes en la desnitrifiación 80

76.- Biodegradación anaerobia de moléculas aromáticas 81

77.- Modelación y obtención de parámetros cinéticos de tratamientos anaerobios de residuos 81

78.- Efecto del pH y carga orgánica de efluentes pesqueros, en el crecimiento de biopelículas de bacterias metanogénicas sobre soportes utilizados en fermentadores de biomasa retenida. 82

79.- Degradación de 2,4,6-triclorofenol por *Pseudomonas paucimobilis* S37 en ausencia de crecimiento; efectos de substratos de fácil metabolización 82

80.- Efecto de la inanición sobre la degradación de 2,4,6-triclorofenol por *Psedomonas paucimobilis* S37 83

PROGRAMA

MIERCOLES 23 DE JULIO

09:00-10:30 Inscripciones

11:00-12:30 Conferencia Inaugural. Salón Blanco Encalada

***E. coli* ENTEROPATOGENICA EPEC-BACTERIOLOGIA PATOGENICIDAD - DIAGNOSTICO Y EPIDEMIOLOGIA**

Dr. Luiz R. Trabulsi - Universidad de Sao Paulo; Brasil

15:00 - 16:30 Mesa Redonda Salón Blanco Encalada

LA MICROBIOLOGIA EN LA PERSPECTIVA DEL AÑO 2000, DESAFIOS Y PROYECCIONES

Coordinador: **Dr.Heriberto Fernández**

Dr. Luiz Trabulsi.	La Microbiología en la perspectiva delaño 2000.
Dra. Gabriela Castillo.	La Microbiología Ambiental en la perspectiva del año 2000.
Dr. Luis F. Avendaño.	La Virología en la perspectiva del año 2000.
Dr. Abel Arrieta.	La Microbiología de Alimentos y la Biotecnología en la perspectiva del año 2000.

15:00 - 16:30 Mesa Redonda Salón Real Audiencia

AVANCES Y PROYECCIONES EN MICROBIOLOGIA ORAL

Coordinador: **Dr. Alfredo Linossier**

Dr. Alfredo Linossier	Caries Dentales
Dr. Jorge Huerta	Enfermedad Periodontal
Dr. Eduardo Donoso	Aspectos bioquímicos de la enfermedad periodontal
Dr. Alfredo Linossier	Proyecciones de la Microbiología Bucal, avances, prevención de patologías y aspectos antropológicos

16:30 - 17:00 Café

17:00 - 18:30 Mesa Redonda Salón Blanco Encalada

EL ROL DE LOS DISTINTOS ACTORES EN EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD ALIMENTARIA DE LA POBLACION

Coordinador: **Dr. Guillermo Figueroa**

Dr. Guillermo Figueroa	Visión General
Dr. Abel Arrieta	Representante de la Universidad
Sr. Emilio Matas	Representante consumidores (SERNAC)
Sr. Manuel Henriquez	Representante de la Empresa (Nestle Chile)
Sra. Mariana Fernández	Representante del Estado (ISP)

19:00 Cocktail Inauguración

Palabras de Bienvenida. Ceremonia de Nombramiento Presidente Honorario de la ACHM Dr. Manuel Rodríguez Leiva.

JUEVES 24 DE JULIO

9:00 - 10:30 Conferencia Central *Salón Blanco Encalada*

EMERGENCIA DEL SINDROME PULMONAR PROVOCADO POR HANTAVIRUS EN AMERICA

Dr. Mario Lozano; Universidad Nacional de Quilmes; Argentina

10:30 - 11:00 Café

11:00 - 18:00 Presentación de Posters *Patio Las Canteras*

11:00 - 12:30 Presentación Trabajos de Incorporación *Salón Blanco Encalada*

Presidente: **Dr. Manuel Rodrigez L.**

Secretaría : **Dra. Mercedes Zaldivar**

Caracterización genética de cepas de *Streptococcus pneumoniae* mediante electroforesis de campo pulsado. M. Gambra

Mapeo de mutaciones de *Salmonella typhi* mediante su transferencia al cromosoma de *Salmonella typhimurium*. C. Toro

Detección de excreción asintomática de Virus Herpes Simplex (HSV) en pacientes con patología Ocular Herpética. M.J. Martínez

Exposición oral de Posters *Salón Real Audiencia*

Presidente: **Dr. Raúl Zemelman**

Secretario: **Dr. Bernardo González**

15:00 - 16:30 Mesa Redonda *Salón Blanco Encalada*

NORMATIVAS Y CONTROL DE CALIDAD EN LABORATORIOS DE AGUAS

Coordinador:	**Dra Gabriela Castillo**	Visión general
	Sra. Ramona Villalón	Representante INN
	Sr. Ricardo Cristi	Representante SISS
	Sra. Cecilia Venegoni	Representante ISP

15:00 - 16:30 Mesa Redonda *SalOn Blanco Encalada*

PROYECCIONES DE LA MICROBIOLOGIA EN BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL.

Coordinadores:	**Ing. Andrés Illanes**	
	Ing. Fernando Acevedo	Lixiviación bacteriana de minerales
	Dr. Juan Asenjo	Utilización de microorganismos recombinamtes
	Ing. Eduardo de la Fuente	Perspectivas del desarrollo de vacunas para salmones en la industria nacional.

Ing. Jorge Retamal	Biodepuración de residuos industriales líquidos
Ing. Gloria Valderrama	Aplicación de la biotecnología en la industria pesquera nacional.
Dr. Rafaél Vicuña	Aplicación de enzimas microbianas en la industria de celulosa.

16:30 - 17:00 Café

17:00 - 18:30 Mesa Redonda *Salón Real Audiencia*

APLICACION DE NUEVAS TECNICAS MOLECULARES DE IMPORTANCIA EN MICROBIOLOGIA

Coordinador:	**Dr. Víctor Cifuentes**	Caracterización de genomas mediante electroforesis de campo pulsado.
	Dr. Alejandro Venegas	Utilización de oligonucleótidos sintéticos por técnicas de PCR para la construcción de genes de peptidos bacterianos.
	Dra. Ana María Sandino	Aplicación de técnicas moleculares para la detección de patógenos de peces.
	Dr. Sergio Marshall	Aplicación de PCR a patógenos de Peces.

VIERNES 25 DE JULIO

9:00 - 10:30 Conferencia de Clausura — Salón Blanco Encalada

ORIGENES Y EVOLUCION DE LOS ECOSISTEMAS PROCARIOTICOS
Dr. Ricardo Guerrero - Universidad de Barcelona, España.

10:30 - 11:00 Café

11:00 - 18:00 Presentación de Posters — Patio Las Canteras

11:00 - 12:30 Presentación Trabajos de Incorporación — Salón Blanco Encalada
Presidente: **Dr. Eugenio Spencer**
Secretaria: **Dra.Eliana Canelo**

Aislamiento y Caracterización de Bacteriofagos de *Vivrio spp.* provenientes de ambientes acuáticos y moluscos bivalvos. P. Villalobos

Bacterias Termófilas Hidrocarbonoclásticas en Ambientes Eulitorales no Termales. A. Dinamarca

Estudio de protección de dos vacunas comerciales frente a una cepa de virus de Bursitis Infecciosa Aviar. R. Aguilar

15:00 - 16:30 Mesa Redonda — Salón Blanco Encalada

NUEVOS HONGOS PATOGENOS EMERGENTES

Coordinador:	**Dr. Eduardo Piontelli**	Aspectos Biogeográficos, ecológicos y epidemiológicos de hongos emergentes.
	Dr. Luis Zaror	Un panorama general.
	Dr. Luis Thomson	Aspectos clínicos y patólogicos.

15:00-16:00 Mesa Redonda — Salón Real Audiencia

VIRUS EMERGENTES

Coordinador:	**Dr. Lautaro Peréz**	VIH.
	Dr. Mario Lozano	Hantavirus.
	Dra. Viviana Luchsinger	Nuevos virus Herpes.

16:30-17:00 Café

17:00-18:30 Asamblea Sociedad Chilena de Microbiología.

20:30 Cena de Clausura por adhesión.

Conferencias

Escherichia coli ENTEROPATOGENICA (EPEC)

Dr. Luiz Trabulsi. Universidad de Sao Paulo, Brasil

Las EPEC son la principal causa de diarrea infantil en Sao Paulo. Son también aisladas en elevada frecuencias en grandes centros urbanos de otros países. Las EPEC son encontradas en varios serogrupos O de *E. coli* . Los serogrupos más frecuentes poseen los antígenos H2, H6 y H34. Las EPEC típicas transportan el plasmido EAF donde son encontrados los genes que codifican para la fimbria AFP, los genes reguladores para la región EAF. Esta región posee una secuencia que reacciona con una sonda homóloga.

Se ha verificado recientemente que varias muestras de EPEC no transportan el plasmido EAF y en otras falta la región EAF, estas muestras han sido llamadas EPEC atípicas. Estas EPEC atípicas adhieren a la célula HEp 2 o HeLa, en un patrón de adhesión denominado adhesión localizada (LA).

Al microscopio electrónico se verifica la destrucción de las microvellosidades y la formación de pedestales, sobre los cuales la bacteria se adhiere. Esta lesión histológica se encuentra también en la mucosa intestinal de niños con infección con EPEC y designada "Attachment/ Effacement (A/E).

Participan en la formación de la lesión A/E intimina y varias proteínas señalizadoras (espA, espP, etc). Fue demostrado recientemente que las EPEC (Típicas y atípicas) transportan una línea de patogenicidad denominada LEE (Locus of Enterocyte Effacement) donde se encuentran todos los genes cromosómicos que codifican la virulencia de la bacteria

EMERGENCIA DEL SINDROME PULMONAR PROVOCADO POR HANTAVIRUS EN AMERICA.

Dr. Mario Lozano, Universidad Nacional de Quilmes, Argentina

Los hantavirus son miembros serológicamente relacionados de la familia *Bunyaviridae*. Hay al menos tres linajes difenentes de hantavinus, denominados, según el nombre del virus prototípico del grupo, Hantaan, Puumala y Sin Nombre. Los hospedadores naturales de estos tres linajes de hantavirus, pertenecen a tres subfamilias separadas de roedores, dentro de la familia *Muridae*. Los aislamientos de hantavirus del linaje Hantaan provienen de roedores miembros de la subfamilia *Murinae*. En los humanos, estos virus provocan una enfemmedad aguda conocida como fiebre hemorrágica con sindrome renal (FHSR). Esta enfermedad fue reconocida por primera vez en occidente después de una epidemia aparecida en 1951 entre las tropas norteamericanas que ocupaban Corea. La tasa de mortalidad asociada con las FHSR producidas por estos virus tiene valores entre 5-20%, siendo la causa de mortalidad más importante el shock y las hemorragias. Una segunda subfamilia de roedores múridos es *Arvicolinae*. Esta subfamilia incluye los géneros *Microtus* y *Clethrionomys*. El primer géneno incluye hospedadores para los hantavirus Prospect Hill Tula, Isla Vista, y Bloodland Lake; *Clethrionomys* es hospedador para el hantavinus Puumala. De este grupo, sólo Puumala ha sido relacionado con una FHSR muy leve. Finalmente, la subfamilia *Sigmodontinae*, que contiene a los ratones silvestres colorados, a los ratones de pie blanco, a las ratas algodoneras, a los ratones silvestres enanos y a los ratones colilargos, incluye los hospedadores para todos los hantavirus del continente americano que provocan la enfermedad denominada síndrome pulmonar provocado por hantavinus (SPH). Esta enfermedad fue reconocida por primera vez en mayo de 1993 en la región de Four Corners de los Estados Unidos. La tasa de mortalidad en el grupo inicial de pacientes fue mayor de 80%. Hasta mediados de enero de 1995 se neportanon 102 casos de SPH en Estados Unidos, 7 casos en Canadá y 3 en Brasil. Desde 1995 se han producido en Argentina 31 casos en tres regiones geográficas. En Orán: 8 casos con 5 muertes, en El Bolsón: 18 casos con 10 muertes y en las Islas Lechiguanas: 5 casos con 3 muertes. Finalmente durante el último año se han confirmado casos en Chile, siendo esta la primera virosis hemorrágica aguda en este país . La tasa de mortalidad promedio de la SPH en la adualidad es del 40%. Hasta el momento no parece haber un tratamiento específico para la enfermedad. La ruta por la cual el virus es transmitido a los humanos es a través de los aerosoles generados con las excreciones de los roedores infectados. Estos roedores aparecen persistentemente infectados y virúricos, sin estar enfermos. Por último, las relaciones genéticas y serológicas entre los diferentes hantavinus asemeja las relaciones genéticas entre los roedores que actúan como hospedadores predominantes para cada virus. La gran semejanza entre las relaciones genéticas de los hantavinus y de sus hospedadores naturales, indica que estos virus no han emergido a través de alguna mutación reciente o algún reordenamiento de los segmentos genéticos, sino más bien debido a modificaciones ecológicas que han puesto a los roedores infectados con los hantavirus en un contacto cercano con el hombre. Por lo mismo, es muy probable que estos vinus y sus hospedadones, hayan estado en este continente hace mucho tiempo. Por ello, la denominación de "enfemmedad emergente" se aplicaría en este caso (como en muchos otros) en el sentido de enfermedad cuya etiología ha sido recientemente detemminada.

ORIGEN Y EVOLUCION DE LOS ECOSISTEMAS PROCARIOTICOS.

Dr. Ricardo Guerrero. Universidad de Barcelona, España

Generalmente, los microorganismos no reciben la consideración de componentes normales de los ecosistemas. Por diversos motivos, sus características de ubicuidad y densidad poblacional son subestimadas. Posiblemente, aunque incorporada del mundo animal y vegetal, la noción de especie no sea del todo aplicable a los microorganismos, si consideramos que estamos hablando de más de 2.000.000 de tipos de organismos, con una gran plasticidad genética y, en el caso de los procariontes, con enormes posibilidades de transmisión horizontal de genes. En los microorganismos se dan todas las posibilidades de sistemas nutricionales: fotoautotrofía, quimioautotrofía, heterotrofía (incluyendo osmotrofía, simbiotrofía necrotrofía y fagotrofía), y sus posibles combinaciones. Hay bacterias que son también depredadoras de otras. Los microorganismos pueden integrarse en las comunidades biológicas como cualquier planta o animal, pero algunos forman comunidades preferentemente microbianas, o incluso, exclusivamente procarióticas.

La ecología microbiana clásica, que dispone de la formación para emprender el análisis de la actividad de los microorganismos, carece por lo regular de los métodos necesarios para identificar todas las poblaciones de la comunidad. No obstante, el primer paso en los estudios microbianos tradicionales es para separar e identificar los microorganismos de sus comunidades. Pero los trabajos que desarrolla la ecología microbiana molecular, campo que cada vez engloba a más científicos, ha empezado a cambiar este estado de cosas.

Las comunidades microbianas que ofrecen un enorme potencial de estudio, han sido reconocidas como fuentes de información muy importantes sobre la biósfera, incluyendo la atmósfera, y los sedimentos antiguos. Al menos, algunas comunidades microbianas están muy organizadas y ponen de manifiesto fenómenos bien conocidos en ecología, como el de especie dominante y la sucesión. Otros, como el nicho, no quedan tan claros en el mundo microbiano. De la misma forma, las comunidades microbianas nos proporcionan sistemas únicos de vida que podemos utilizar para comprobar conceptos generales sobre organización de las poblaciones naturales. Las comunidades microbianas ocupan un pequeño volumen, crecen rápidamente y son mucho más fáciles de estudiar que las comunidades de animales o plantas.

Una de las comunidades microbianas mejor estudiadas son los tapetes microbianos. También son los ecosistemas más antiguos de la historia de la vida. Aparecen en los bordes de los continentes y en muchas zonas húmedas interiores desde hace 3500 millones de años. Sus restos calcificados originaron las estructuras conocidas como estromatolitos, que junto con las formaciones de hierro en bandas (BIF, las mayores de las cuales aparecieron hace 2300 millones de años), constituyen las estructuras sedimentarias dominantes de los eones Arqueanoa (desde hace 3800 hasta hace 2500 millones de años).

Las rocas más antiguas de la Tierra tienen unos 3900 millones de años. Corresponden a la formación sedimentario-metamórfica de Isua, en Groenlandia. Se observan, además inclusiones de cantos rodados. Aunque no se han encontrado restos de organismos, las rocas de Isua revisten gran interés evolutivo porque los sedimentos rocosos necesitan agua en estado líquido para formarse. Debido a que el agua es indispensable para la vida, puede decirse que a partir de entonces la Tierra está ya preparada para la aparición de la vida («biopoyesis»).

En algunos lugares de Australia (formación de Warrawoona) y Sudáfrica (formación de Fig Tree) se han encontrado rocas de 3500 millones de años. En ellas se observa diversas poblaciones bacterianas, organizadas en comuniades, probablemente anaeróbicas. La vida en la Tierra tuvo que originarse, por consiguiente, algún tiempo después de los 3900 millones de años. La estructura de la comunidad procariótica era muy similar a la de los actuales tapetes microbianos. Su fisiología, a la de un «sulfuretum» (en el sentido de L.M.G. Beas-Becking). Esto nos demuestra que existía un reciclado de materia, especialmente de carbono, nitrógeno y azufre. Si no se hubiera producido esa «ecopoyesis» (según el concepto de R:H.Haynes), la vida no habría podido continuar, debido al agotamiento de los elementos biogénicos de la superficie. El eón Arqueano comprende entre los 3900 y los 2500 millones de años. En él se produjo la transformación de la atmósfera reductora en una atmósfera oxidante.

Las rocas con una antiguedad inferior a 2500 millones de años presentan una gran diversidad morfológica de microorganismos fósiles. Las microfotografías de secciones muestran los principales tipos

de estructuras de las bacterias actuales. Esto representa una prueba de que los procariontes, como grupo, desarrollaron una importante variabilidad morfológica y metabólica hace más de mil millones de años. En aquel entonces los ecosistemas procarióticos eran ya esencialmente aeróbicos. A partir de esa primera evolución metabólica, exclusivamente procariótica , la evolución posterior se centró principalmente en variaciones celulares, desde los primeros eucariontes (hace 1800 millones de años), hasta la actualidad.

Es probable que la vida se originara en la Tierra - y quizás también en algún otro lugar del universo -más de una vez. Alcanzadas las condiciones necesarias para ello, no parece que la aparición de la vida tenga que ser un fenómeno único e irrepetible. Una vez originada la primera célula es de suponer que empezaría a proliferar nutriéndose de la materia orgánica presente en la superficie de la Tierra. Ello causaría una disminución de los nutrientes o, lo que es lo mismo, un ambiente oligotrófico. A su vez, las nuevas células excretarían al medio las moléculas resultantes de su metabolismo. Para que la vida se mantuviese, los organismos existentes tuvieron que adoptar diferentes tácticas. Por una parte, la motilidad, las células tendrían que desplazarse hacia zonas en las que hubiera alimento. Otra posibilidad de supervivencia sería la diferenciación metabólica, de manera que las moléculas excretadas por unas células pudieran ser utilizadas por otras para obtener energía y alimentarse. Este proceso habría originado las primeras cadenas tróficas, que fueron haciéndose cada vez más largas, hasta conseguir un reciclado total de los elementos. Este fue el gran paso para el mantenimiento de la vida. La aparición de los ecosistemas, o ecopoyesis , evitó que se agotasen los elementos biogénicos de la superficie del planeta, cosa que habría ocurrido en un tiempo máximo de 200 o 300 millones de años y que habría determinado la extinción de la vida. La actividad de estos ecosistemas determinó la evolución posterior del planeta , que hasta hace unos 1800 millones de años tuvo como únicos habitantes a microorganismos procarióticos . Ellos fueron los «inventores» de casi todos los sistemas metabólicos que conocemos actualmente y alcanzaron una gran diversidad.

Trabajos de Incorporación

«CARACTERIZACION GENETICA DE CEPAS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE MEDIANTE ELECTROFORESIS DE CAMPO PULSADO» *(GENETIC CARACTERIZATION OF STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE STRAINS BY PULSED FIELD GEL ELECTROPHORESIS)*

Dra. Gambra M., Dra. Trucco O., Dra. Prado V.,T.M.Salinas A., Dr. Fica A., Dr. Hermosilla G.
Depto. de Microbiología de la Universidad de Chile. Depto. de Biología Molecular de Universidad Católica de Chile. Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.

INTRODUCCION: *S. pneumoniae* es un importante agente causal de infecciones en niños y adultos. En los últimos años han ocurrido grandes cambios en la epidemiología de *S. pneumoniae* a nivel mundial que han evidenciado la necesidad de implementar sistemas de vigilancia utilizando técnicas sensibles y específicas para definir brotes y caracterizar cepas. La Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE) ha mostrado ser una técnica efectiva en estudios epidemiológicos de infecciones neumocócicas. Nuestro objetivo fue caracterizar geneticamente mediante esta técnica cepas de *S. pneumoniae* aisladas en nuestro medio en casos índices y contactos. **MATERIAL Y METODO**: Se analizaron 28 cepas, previamente serotipificadas, aisladas de niños con infecciones neumocócicas invasivas y sus contactos. En 13 cepas se obtuvo un patrón de restricción bien definido (10 cepas de niños con infección invasiva por *S. pneumoniae* y 3 cepas de colonización faríngea en contactos). Se realizó PFGE, previa extracción del material genético y corte con enzima de restricción(Sma I). Se estimó el poder discriminatorio de la técnica y la distancia genética entre las cepas por construcción y análisis de dendograma a través del programa computacional MEGA. **RESULTADOS**: Todos los patrones de restricción resultaron diferentes, incluyendo cepas de un mismo serotipo, lo que determina un alto poder discriminatorio de la técnica. Los distintos patrones de restricción mostraron diferencias en al menos 4 bandas. No se observó una relación clonal entre las cepas aisladas de niños con infección invasiva. Las cepas de casos índices y de sus contactos mostraron diferentes patrones de restricción, aún siendo del mismo serotipo. **CONCLUSIONES**: Los resultados sugieren que en estos casos casos aislados de nuestro medio varios clones de *S. pneumoniae* causan enfermedades invasivas en niños y que no se observaron evidencias de transmisión intrafamiliar de este patógeno.

Proyecto FONDECYT Nº 1950635.

MAPEO DE MUTACIONES DE *SALMONELLA TYPHI* MEDIANTE SU TRANSFERENCIA AL CROMOSOMA DE *SALMONELLA TYPHIMURIUM* ***(Mapping of Salmonella typhi mutations by their transference to the Salmonella typhimurium chromosome)***

Cecilia S. Toro, Nara Figueroa-Bossi y Guido C. Mora
Laboratorio de Microbiología, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile
Financiado por: Proyecto PG-102, Dpto. Post Grado y Post Título, Universidad de Chile; Proyecto ECOS-CONICYT y FONDECYT 2970029.

Considerando que la caracterización genética de *S. typhi* presenta dificultades debido a la carencia de herramientas que lo permitan, hemos diseñado una estrategia para mapear algunas mutaciones de *S. typhi*, transfiriéndolas a *S. typhimurium* y aplicando en este contexto genético técnicas ampliamente aceptadas, de fácil manejo e interpretación. Para ello, hemos diseñado un protocolo de transformación mediante electroporación, usando DNA cromosomal de las mutantes de *S. typhi*, y como receptora de la transformación *S. typhimurium* mutante en *mutHSL* (sistema de reparación mismatch), *recBCD* (actividad Exonucleasa V) y *hsd* (sistema de restricción-modificación). Las mutantes de *S. typhi* han sido obtenidas por inserción del fago-transposón MudJ (mini-Mu), que posee el gen de la b-galactosidasa como gen reportero, y el gen de resistencia a kanamicina (Kan). Este marcador fue transferido desde *S. typhi* a *S. typhimurium* mediante recombinación homóloga de los genes respectivos. Desde el transformante obtenido, se transfirió por transducción mediante el fago P22 a una cepa de *S. typhimurium* silvestre y se seleccionó los transductantes Kan^r Lac^+. Hecho esto, se mapeó la inserción MudJ mediante una colección de profagos Mud-P22. La validez de esta técnica fue demostrada por el mapeo de mutaciones en *S. typhi* previamente caracterizadas. Se logró mapear 5 mutantes auxotróficas de *S. typhi* y 3 mutantes con fenotipo resistente a clorato. Las mutantes resistentes a clorato son defectuosas en el metabolismo anaeróbico del nitrato y fueron seleccionadas por ser reguladas por la disponibilidad de oxígeno. Esta estrategia nos permite por lo tanto, identificar genes involucrados en la patogenicidad de *S. typhi* a partir de una colección de mutantes al azar de *S. typhi,* obtenida en nuestro laboratorio, que han sido caracterizadas solo fenotípicamente.

DETECCION DE EXCRECION ASINTOMATICA DE VIRUS HERPES SIMPLEX (HSV) EN PACIENTES CON PATOLOGIA OCULAR HERPETICA (Asymptomatic viral shedding in HSV ocular infections)

Martínez MJ, Vogel M, Stoppel J, Traipe L, Squella O, Charlin R, Srur M, Suárez M. Deptos. Microbiología y Oftalmología. Fac. Medicina U. Chile

El HSV-1 es el principal agente causal de patología ocular herpética.Se ha sugerido una ruta de diseminación intraganglionar, a partir de una infección oral, estableciéndose así también latencia viral en neuronas oftálmicas, cuya reactivación ocasionaría patología ocular. **Objetivos.** Investigar la excreción viral simultánea a nivel oral en pacientes con herpes ocular sintomático, así como la existencia de reactivaciones asintomáticas. **Metódica**. Del seguimiento de 30 pacientes con patología ocular herpética, se obtuvieron 136 muestras (76 de ojos enfermos, 30 de ojos sanos y 30 de cavidad oral); se estudiaron mediante aislamiento viral en cultivo celular, reacción de polimerasa en cadena (PCR) y tipificación antigénica y genómica. **Resultados**. 63.3% de las muestras de ojo enfermo en período sintomático y 6.5% de las obtenidas en período asintomático resultaron HSV positivas. Una muestra de ojo sano fue positiva por ambas técnicas. En 6.6% el diagnóstico fue sólo posible por PCR. De las muestras positivas, 21 resultaron HSV-1 y una HSV-2. No se detectó excreción viral oral y ocular concomitante. **Conclusiones**. Se demostró la existencia de excreción ocular asintomática y de reactivación herpética simultánea en ambos ojos, con manifestación clínica en sólo uno de ellos. Se demuestra el mayor rendimiento de la PCR en el diagnóstico y seguimiento de la patología ocular herpética. Proyecto FONDECYT 195 0631

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE BACTERIOFAGOS DE *Vibrio* spp. PROVENIENTES DE AMBIENTES ACUATICOS Y MOLUSCOS BIVALVOS (Isolation and characterization of phages of *Vibrio* spp.)

Villalobos P. y C. Miranda, Departamento de Biología Marina. Universidad Católica del Norte. Casilla 117, Coquimbo.

Los estudios sobre vibriófagos son escasos. Dada la importancia del género *Vibrio* en actividades de cultivo y a la capacidad de los bacteriófagos de predar bacterias es de gran interés la caracterización de los sistemas fago-hospedador *Vibrio-vibriófago.* Se ensayaron tres técnicas para la recuperación de sistemas fago-hospedador de vibrios marinos: Número más probable, Enriquecimiento simple y Filtración por membrana. Los bacteriófagos VF1, VF2 y VF15 fueron recuperados con las cepas hospedadoras identificadas como *Vibrio anguillarum* y *Vibrio* sp. I, y se determinaron algunas de sus características morfofuncionales. Los tres bacteriófagos presentaron propiedades similares, tales como: rango reducido de hospedador, capacidad lítica influenciada por la temperatura de incubación, morfología icosahédrica y sensibilidad al calor, lo cual permite incluirlos dentro de la familia ***Siphoviridae***, virus bacterianos cuya característica diferencial es estar compuestos por ácido desoxirribonucleico. La naturaleza proteica de los tres viriones en estudio fue evidenciada por su resistencia al cloroformo. Su alta sobrevivencia en agua de mar, su viabilidad por largos períodos de tiempo al ser almacenados a -40ºC, y su capacidad para reducir los niveles de las bacterias hospedadoras en el medio acuático sugieren el uso potencial de estos sistemas en aplicaciones biotecnológicas.

BACTERIAS TERMOFILAS HIDROCARBONOCLASTICAS EN AMBIENTES EULITORALES NO TERMALES (Thermophilic Hidrocarbonoclastic Bacteria At Eulitoral Non-Thermal Environment)

Dinamarca, M.A. *(1), Llanos, J.(2), Prieur, D.(2), García-Tello, P.(1)*
(1)Laboratorio de Microbiología Marina, Facultad de Ciencias - Básicas y Matemáticas, Universidad Católica de Valparaíso. Chile.
(2) Laboratorio de Microbiología Marina, Estación Biológica de Roscoff, Francia.

Los microorganismos termófilos se caracterizan por estar presentes en una gran variedad de ambientes, termales como no termales. Asociado a esto, se destaca la diversidad sistemática en que se encuentran termófilos: archeobacterias, micoplasmatales, cianobacterias, y eubacterias. Dentro de los microorganismos termófilos reportados, presentan especial interés las cepas termófilas hidrocarbonoclásticas obligadas, que requieren como fuente de energía y carbono hidrocarburos. En el presente trabajo se establece la relación entre cuatro cepas termófilas hidrocarbonoclásticas aisladas desde ambientes no termales, y la presencia de hidrocarburos alifáticos biogénicos en el ambiente. Los microorganismos termófilos fueron aislados desde arena de la zona intermareal. La cantidad de microorganismos psicrófilos, termófilos y termófilos hidrocarbonoclásticos se determinó por medio de la técnica del numero mas probable. La capacidad hidrocarbonoclástica se evaluó con hexadecano en medio basal L-Salts. La relación de contacto entre el sustrato hexadecano y las células fue observada por microscopía de contraste de fase. La presencia y origen de hidrocarburos alifáticos en las arenas analizadas, se determino por cromatografía de gas. El 83% de las muestras analizadas presento termófilos saprófitos. No obstante, su densidad fue baja (17 NMP/100g) respecto a la de saprófitos psicrófilos (240 x 10^6 NMP/100g). De las muestras analizadas, sólo cuatro cepas fueron capaces de crecer en hexadecano como única fuente de energía y carbono. No se descarta el rol de la hidrofobicidad, vista la relación microscópica célula/sustrato. Las cepas ; *SNl, SN2, SN3* y *SN4* tienen una temperatura mínima de crecimiento de 37ºC, una óptima de 65ºC y una máxima de 75ºC. Se establece de ésta manera su capacidad hidrocarbonoclástica y características termofílicas. El análisis cromatográfico de las muestras de arena indicó la presencia de hidrocarburos. alifáticos, relacionando esto a la capacidad hidrocarbonoclástica de las cepas aisladas. Se destaca la presencia de bacterias termófilas en hábitats fríos lo cual sugiere períodos de latencia prolongados y una eventual actividad hidrocarbonoclástica estacional.
Proy.122704 DGIP.UCV.

ESTUDIO DE PROTECCION DE DOS VACUNAS COMERCIALES FRENTE A UNA CEPA DE VIRUS DE BURSITIS INFECCIOSA AVIAR.

R. Aguilar, A. Cubillos y P. Salazar.
Instituto Patología Animal, Fac. Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Casilla 567. Valdivia.

Se estudió la protección que pueden conferir dos vacunas comerciales, una viva y otra inactivada (oleosa) de Bursitis Infecciosa Aviar (BIA), a través del Indice R_{bo} (peso bolsa de fabricio/peso corporal x 1000) y respuesta humoral, medida por seroneutralización. Se trabajó con 3 grupos de 25 aves SPF (Specific Pathogen Free): **Grupo 1.** Vacuna viva aplicada al séptimo día. **Grupo 2.**Vacuna inactivada, vía subcutánea aplicada al día de edad. **Grupo 3**. Sin vacunar. Quince aves de todos los grupos fueron desafiadas con cepa nacional (G-2) de BIA y las 10 aves restantes correspondieron al control de la vacuna. Diez días postdesafío las aves fueron pesadas individualmente, obteniéndose muestra de sangre para realizar una seroneutralización beta en fibroblastos de embrión de pollo SPF. Posteriormente se sacrificaron para obtener la bolsa de Fabricio, la cuál fue pesada para el cálculo del Indice R_{bo}. Aves no protegidas se consideraron aquellas que obtuvieron un valor menor a 2 desviaciones estándar, respecto del promedio de su grupo control vacuna. Ambas vacunas protegieron a las aves en un 87% frente al desafío con la cepa G-2 y la respuesta humoral correspondió en el caso de la vacuna viva a un GMT (Título Medio Geométrico) de 1194, en la vacuna inactivada a 520 y al grupo 3 no vacunado se obtuvo un GMT < 20.

Posters

Microbiología Básica

EFECTO DEL SUMINISTRO DE DIOXIDO DE CARBONO EN EL CRECIMIENTO DE *Thiobacillus ferrooxidans* (Effect of carbon dioxide supply in the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*)

F. Acevedo, J.C.Gentina, N. García. Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, Av. Brasil 2147, Valparaíso.

El *Thiobacillus ferrooxidans* es una bacteria quimioautotrófica que tiene un papel fundamental en la biolixiviación de minerales. Uno de los puntos críticos en estos procesos es la aireación. Normalmente ésta se ha asociado al suministro de oxígeno, pero debe tenerse presente que también provee el CO_2 requerido para el crecimiento. Al dimensionarse la aireación en base a la demanda de oxígeno, puede ser que el CO_2 resulte limitante. Si ello es así, entonces el enriquecimiento del aire con CO_2 causará una mejora en la cinética de crecimiento de *T. ferrooxidans*. Para validar esta hipótesis se realizaron experiencias de cultivo de *T.ferrooxidans* R-2 en fermentador de 2 litros con 1.3 litros de medio 9K a temperatura y pH constantes de 35ºC y 2.4 respectivamente. El fermentador se agitó a 500 rpm y la velocidad de aireación fué de 1.2 vvm. Se realizaron experiencias con aire (0.03% CO_2) y con aire suplementado con 1, 2, 3 y 4% CO_2. La concentración celular se determinó por recuento directo y por proteína celular según Lowry, considerando un contenido de 43% de proteína en la célula. El ion ferroso se cuantificó por un método colorimétrico con o-fenantrolina y el hierro total por el mismo método, previa reducción del ion férrico con hidroxilamina. Los resultados confirman la hipótesis de limitación por CO_2. Efectivamente, tanto la velocidad específica de crecimiento, como el rendimiento de ion ferroso en células y la productividad volumétrica de férrico evidencian un significativo incremento a concentraciones crecientes de CO_2, alcanzando valores de 0.15 h^{-1}, 0.013 g/g y 0.35 g/l•h, respectivamente, con aire con 2% CO_2. Enriquecimientos mayores tuvieron un efecto negativo, alcanzándose inhibición total con 4% CO_2. Estos resultados tienen alta significación, ya que centran el problema de la aireación en el CO_2, verdadero limitante del crecimiento.

Este trabajo forma parte del proyecto FONDECYT 1950974.

EVALUACION DE PLASMIDOS RECOMBINANTES COMO VECTORES DE INTEGRACION EN LINEAS CELULARES DE PECES (Recombinant Plasmids as Integration Vectors in Fish Cell Lines).

Rojas, M.V., Villalobos, P y Marshall, S.
Laboratorio de Genética Molecular. Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso. Av. Brasil 2950, Valparaíso.

Un problema fundamental en la introducción de información genética en un organismo, es lograr que ésta se mantenga y transmita a las generaciones siguientes. La persistencia de esta información supone la integración del vector que la contiene en el genoma que lo recibe. El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de inmortalización de un plásmido (*p103*) transfectado en líneas celulares de peces (CHSE-214, derivadas del tejido embrionario de salmón, y EPC, provenientes del epitelioma papiloso de carpa). El *p103*, derivado del plásmido control *pCMVL*, presenta el gen reportero *LUC*, flanqueado por dos secuencias de la familia *SmaI*, que se encuentran repetidas y dispersas en el genoma de células de salmón, lo que favorecería su integración sitio específica en el genoma de esta línea celular. Se han ensayado técnicas de transferencia de genes mediante DEAE-dextran y Transfectam. La primera resulta ser tóxica para estas células. Transfectam, hasta ahora no probado en células de peces, sólo puede ser usado bajo condiciones muy controladas. Se han estandarizado las condiciones de transfección (tiempo de exposición, razón Transfectam/ DNA) que presentan mayor eficiencia de incorporación de los plasmidios *p103* y *pCMVL* mediante análisis por DOT BLOT de las fracciones P (sedimento) y S (sobrenadante) del DNA de las células transfectadas. Por esta misma técnica se determinó la mantención de los plásmidos después de 1,2 y 3 traspasos sucesivos de las células tratadas. Además se ha evaluado la capacidad de integración de ambos plásmidos en estas líneas celulares mediante el análisis de los DNA de las células transfectadas con diferentes enzimas de restricción por Southern blot. Se detecta integración del plásmido *p103* en la línea EPC, lo que podría indicar la presencia de secuencias tipo SmaI en esta línea celular.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1960305

EFECTO DE LA TEMPERATURA Y DISPONIBILIDAD DE OXIGENO SOBRE LA BIOSÍNTESIS DEL LIPOPOLISACARIDO DE *Salmonella typhi* (Effect of growth temperature and oxygen availability on the biosynthesis of *Salmonella typhi* lipopolysaccharide).

Vinés, E. D., Bittner, W. M. y Contreras, I. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Casilla 233, Santiago.

Se ha estudiado la regulación de genes involucrados en la síntesis del lipopolisacárido (LPS) de *Salmonella typhi* por condiciones ambientales; utilizando la metódica de fusión de operones a través de mutagénesis con el transposón MudJ (kan, *lac*). Se obtuvo una colección de mutantes de *Salmonella typhi* Ty2 por inserción de MudJ, las que fueron seleccionadas por su resistencia a kanamicina. Éstas fueron replicadas a placas de Agar Luria con el sustrato de β-galactosidasa, X-Gal, e incubadas a 30ºC y 37ºC; paralelamente, fueron replicadas también a placas de Agar Luria conteniendo fago Ffm, que infecta cepas rugosas de *Salmonella*. De esta forma se aislaron tres mutantes que mostraron expresión diferencial de β-galactosidasa y a su vez, distinta sensibilidad al fago de acuerdo con la temperatura. Se determinó la actividad β-galactosidasa *in vitro* en cultivos crecidos a 30ºC y 37ºC en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Los resultados indican que la expresión de de la actividad enzimática es reprimida a 37ºC, en tanto que es inducida en ausencia de oxígeno. La mayor producción de _-galactosidasa ocurre a 30ºC en anaerobiosis. Mediante análisis de SDS-PAGE, se comparó el patrón de migración del LPS de las mutantes con el de la cepa silvestre. De las tres mutantes, dos presentan una transición de fenotipo liso a semi rugoso al pasar de 37ºC a 30ºC en aerobiosis y un fenotipo completamente rugoso en condiciones anaeróbicas; la restante presenta un fenotipo liso a ambas temperaturas en presencia de oxígeno, mientras que se aprecia completamente rugosa a ambas temperaturas en ausencia de éste. Nuestros resultados sugieren una regulación en la biosíntesis del LPS por cambios en las condiciones de temperatura y disponibilidad de oxígeno.
Financiado por Proyecto Fondecyt 1960864.

ESTRATEGIAS PARA DETEMINAR LA POTENCIALIDAD INMUNOGENICA DE *Piscirickettsia salmonis* (Strategies to determine the immunogenic potencial of *Piscirickettsia salmonis*)

Zahr, Marcela; Skarmeta, Ana María y Marshall, Sergio.
Universidad Catolica de Valparaíso. Laboratorio Genetica Molecular. Av. Brasil 2950. Valparaíso

P. salmonis, el agente causal de la piscirickettsiosis, es el patógeno más importante de peces salmónidos cultivados en el sur de Chile. Es un parásito intracelular, de forma pleomórfica predominantemente cocoide, Gram (-), cuyo tamaño fluctúa entre 0.5 um y 2 um. Debido a su naturaleza intracelular obligada, *P. salmonis* solamente se puede replicar en líneas de cultivo de células de peces. En este trabajo se presentan dos vías alternativas para la detección de los componentes estructurales de *P. salmonis*, con el fin de analizar su capacidad inmunogénica. Uno de los métodos para la purificación del patógeno a partir de muestras de órganos infectados (hígado, riñón y bazo) fue un protocolo específico basado en centrifugaciones diferenciales e isopícnicas en gradientes de densidad. La fracción que contenía las bacterias fue analizada mediante técnicas de inmunofluorescencia utilizando sueros de conejo Anti - *P. salmonis*. El método nos permitió recuperar las bacterias parcialmente purificadas de los tejidos inicialmente procesados, para ser posteriormente analizadas. Por otra parte, la solubilización de homogenados de órganos infectados con el detergente Triton X-114, permitió enriquecer una fase con los componentes estructurales de *P. salmonis*, especialmente el lipopolisacárido (LPS) que es un constituyente específico de la membrana externa de todas las bacterias Gram (-) incluyendo rickettsias y algunas cianobacterias. El LPS se puede llegar a utilizar como antígeno inmunoreactivo de superficie e indicador de infección, emulando otros sistemas de infeccion.
Patrocinado por Proyecto FONDEF 96/1038 / FIP 95-34 / DGIPG-UCV

CARACTERISTICAS BACTERIOLOGICAS DE BACTERIOCINA PsVP-10 AISLADA DE *Pseudomonas sp.*(Bacteriological characteristics of PsVP-10 bacteriocin isolated from *Pseudomonas* sp.)

C.Padilla., O. Lobos, P. Brevis y E. Hubert. Departamento de Microbiología. Universidad de Talca. Camino Lircay s/n. Talca.

A partir de muestras de sedimento de pozos de agua se aisló *Pseudomonas* sp. (R-10) productora de bacteriocina de amplio espectro antibacteriano. La óptima producción de esta sustancia se logró en medio CPB ideado para tal evento. Se observó que en la primera etapa del crecimiento exponencial bacteriano se inicia el proceso bacteriocinogénico y que la mayor producción de la bacteriocina se obtiene en la fase estacionaria del crecimiento. Se demostró que plasmidios presentes en esta cepa no se relacionan con la producción de la mencionada sustancia antibacteriana. La bacteriocina fué purificada mediante técnicas de cromatografía de intercambio catiónico, RP-HPLC y se determinó su composición aminoacídica. Esta sustancia corresponde a un péptido (PsVP-10) con un peso molecular aproximado de 2.400. PsVP-10 fué resistente a la temperatura (100ºC por 60 minutos a pH 2.5) y a la acción de varias enzimas proteolíticas (tripsina, proteinasa K, Proteasa IV, pepsina y quimiotripsina). Se observó que el péptido purificado mantiene su acción sobre un importante número de bacterias Gram positivo y negativo (*Salm. typhi, Salm. typhimurium, Sh. flexneri, V. cholerae, L. monocytogenes, Str. pyogenes, Staph. aureus, Ac. baumanii* y *Ps. aeruginosa* entre otras). La concentración de bacteriocina, expresada en unidades arbitrarias por ml (UA/ml), presento variaciones respecto de su acción letal sobre los géneros bacterianos estudiados.
Proyecto FONDECYT Nº 1950417.

COMPARACION ENTRE EL PERFIL POLIPEPTIDICO DE BACTERIAS HALOFILAS Y PLANTAS TOLERANTES A ESTRES SALINO (Comparison between the polypeptide profile of halophilic bacteria and salt tolerant plants)

G. Muñoz[1], C. Gonzalez[1], P. Flores[1], B. Prado[2] y V. Campos[2].
Laboratorio de Biología Molecular en Plantas[1], Laboratorio de Microbiología Ambiental[2], Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso, Casilla 4059, Valparaíso.

La salinidad es un factor adverso de especial importancia que limita el desarrollo de microorganismos como también los procesos de germinación y crecimiento en plantas. Los mecanismos que subyacen a las respuestas de tolerancia son complejos, involucran síntesis de proteínas identificándose algunas respuestas comunes entre difrentes organismos. Con la finalidad de comparar el perfil polipeptídico en respuesta a la salinidad entre bacterias halotolerantes, halofilas moderadas y plantas halotolerantes se utilizaron como modelos de estudio bacterias aisladas de la Laguna Tabenquiche (Salar de Atacama) y plántulas de *Prosopis chilensis*. Experimentalmente, las bacterias halofilas moderadas se hicieron crecer en un medio suplementado con 15% de NaCl y las semillas de *P. chilensis* se germinaron en NaCl 500mM. Como control se emplearon bacterias y semillas en un medio carente de sal. Como en la planta es la semilla lo que entra primero en contacto con la salinidad del medio, se prepararon extractos de proteínas procedentes de cotiledones de plántulas de 4 días de germinación. Las proteínas se separaron mediante electroforesis en geles denaturantes de poliacrilamida al 10% y el perfil polipeptídico se observó por tinción con Azul de Coomassie. Se ensayaron condiciones reductoras y no reductoras, como también la estabilidad al calor de las proteínas. Nuestros resultados muestran en bacterias y en plantas la aparición de una proteína de 44 kDa en respuesta a la salinidad. Esta proteína se obtiene tanto en condiciones reductoras como no reductoras. Más aún en ambos sistemas se identifican proteínas estables a la ebullición en el rango de pesos moleculares entre 80 kDa y 27 kDa, demostrando así que organismos procariontes y eucariontes pueden presentar respuestas comunes de tolerancia a la salinidad.

Financiamiento: Proyecto DGIPG 122.733/97

TRANSFERENCIA DE RESISTENCIA A AGENTES ANTIMICROBIANOS EN BACTERIAS COLIFORMES AISLADAS DE AGUAS SERVIDAS TRATADAS. (Transferable resistance to antimicrobial agents in coliform bacteria isolalted from treated sewage).

Juan Silva*, Verónica Vladillo*, Lorena Callejas*, Héctor López*, Janet Olmos* y Gabriela Castillo**.
* Depto. de Tecnologia Médica-INDES, Univ. de Antofagasta.
** Depto. de Ingeniería Civil, Universidad de Chile.

Las aguas servidas constituyen los principales reservorios de bacterias entéricas que llevan genes que codifican resistencia a los antibióticos. El objetivo de este trabajo fue investigar la presencia de bacterias coliformes con genes transferibles de resistencia a los antibióticos, en muestras de aguas servidas tratadas en una Planta de Lodos Activados de Antofagasta. Se aislaron diversas especies de bacterias coliformes en placas de agar McConkey que contenían antibióticos. Se les determinó la resistencia a 10 antibióticos y se ensayó la capacidad de transferir la resistencia a una cepa de *E. coli* K-12. La mayor resistencia de las especies de coliformes, se observó frente a ampicilina (80-100%), tetraciclina (30-100%), sulfametoxazol-trimetoprim (20- 80%). Resistencia a 3, 4 y 5 antibióticos, simultáneamente, fue observada en un gran porcentaje de bacterias coliformes. Diversas especies de coliformes evidenciaron la existencia de plasmidios, ya que transfirieron resistencia antibiótica a *E. coli* K-12. El hecho de que las Plantas de Tratamientos de aguas servidas permitan la sobrevida de bacterias coliformes que llevan genes transferibles de resistencia antibiótica, hace necesario reevaluar el concepto de calidad de estas aguas.

Financiamiento: Proyecto G-013, DINV-Univ. Antofagasta.

PLASMIDIOS NATURALES CONJUGATIVOS EN CEPAS DE *SALMONELLA PARATYPHI* B Y SU POTENCIAL DE TRANSMISION LATERAL (Natural conjugative plasmids in strains of *Salmonella paratyphi* B and their potential for lateral transmission)

Heim A. & J. Robeson
Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso, Avda. Brasil 2950, Valparaíso.

*Salmonella paratyphi*i B es una bacteria entérica patogénica para el ser humano, cuyo ciclo de vida comprende su paso por el medio ambiente acuático, ya sea dulce o marino, del cual puede ser aislada fácilmente, lo que indica su capacidad de sobrevida en dicho ambiente secundario, en donde podría interaccionar genéticamente con otras especies bacterianas, autóctonas y alóctonas. En este contexto, el flujo de marcadores de resistencia a antibióticos, codificados principalmente en plasmidios, es relevante dado el potencial de evolución acelerada de cepas multirresistentes de *S. paratyphi* B, así como de otras bacterias propias del medio acuático. Dentro de este marco conceptual, se investigó una colección de cepas de referencia de cepas de *S. paratyphi* B (SGSC) encontrándose plasmidios que codificaban multirresistencia a antibióticos, los que eran transmisibles en diversas condiciones de incubación, en cruces genéticos inter e intraespecíficos. Nuestros resultados sugieren que *S. paratyphi* B puede aportar a la variabilidad genética intraespecífica y de otras enterobacterias.
Financiamiento: DGIPG / UCV / Proyecto 122.710

TRANSMISION DE MARCADORES DE RESISTENCIA A OXITETRACICLINA DESDE ENTEROBACTERIAS HACIA BACTERIAS MARINAS (Transmission of oxytetracycline resistance markers from enterobacteria marine bacteria)

Pefaur R. & J. Robeson.
Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso, Avda. Brasil 2950, Valparaíso.

La transmisión horizontal de genes de resistencia a antibióticos en el ambiente marino podría ser un proceso frecuente. En este contexto, las enterobacterias que acceden a dicho ambiente podrían contribuir a la variación genética de bacterias marinas. Esto puede evaluarse estimando el flujo lateral de genes de resistencia a tetraciclinas, especialmente oxitetraciclina (OTC), los cuales se encuentran a menudo en poblaciones enterobacteriales asociados a plasmidios transmisibles. Se seleccionaron enterobacterias OTC^r de aguas contaminadas, tanto dulces como marinas. Se encontró que un 33.3% contenían marcadores de OTC^r transmisibles a una cepa receptora de *Escherichia coli* K12, la cual tiene características tales que permiten un fácil ensayo de transmisión hacia bacterias naturales. En este trabajo se usaron como receptoras bacterias marinas planctónicas y asociadas a superficie de *D. antarctica*. Usando estas bacterias marinas se encontró que sólo un 5.4% de las cepas ensayadas adquieren al menos un marcador de OTC^r de origen enterobacterial. Los resultados obtenidos aportan evidencia en favor de la hipótesis planteada.
Fuente financiamiento: DGIPG-UCV-Proyecto 122/710.

INMUNIZACION CON SOD DE *Brucella abortus* CLONADA Y EXPRESADA EN *E.coli* PROTEGE FRENTE AL DESAFIO CON LA CEPA SILVESTRE (Inmunization with cloned *Brucella abortus* S0D protein expressed in *E.coli* protect against challenge with wild type strain).

Andrews, E.; Folch, H. (*) y Oñate, A. Depto. de Microbiología, U. de Concepción, Casilla 152-C Concepción; (*) Instituto de Inmunología, U. Austral de Chile, Valdivia.

Introducción: Las vacunas que se utilizan para la prevención de la Brucellosis están constituídas por bacterias atenuadas en su virulencia de moderada protección cuyo manejo es peligroso para el operador. Por esta razón, es interesante la búsqueda de antígenos inductores de una buena respuesta inmune celular y protectora. El objetivo de este trabajo es estudiar la protección que confieren proteínas de *Brucella abortus* expresadas en *Escherichia coli*. **Material y Métodos:** Ratones BALB/c fueron inmunizados utilizando cepas de *E.coli* expresando la superóxidodismutasa (SOD), como controles negativo se utilizó *E. coli* sin el inserto para la SOD y sin el plásmido, como control positivo grupos de ratones fueron vacunados con la cepa *Brucella abortus* RB51 vivas. Los ratones fueron desafiados 45 días después con la cepa patogénica de *Brucella abortus* 2308 y a los 15 días se evaluó la protección por recuento de unidades formadoras de colonias (UCF) de los bazos de los ratones vacunados. **Resultados:** Se observó que *E. coli* que contiene el inserto para la SOD protege a los animales del dasafío con la cepa patogénica, medido por la disminución del número de bacterias en el bazo respecto al control. La cepa atenuada de *B.abortus* RB51 confiere protección a los ratones frente al desafío con la cepa patogénica por la disminución en dos logaritmos de las UFC, en tanto que las mismas bacterias muertas fallan en inducir protección. **Discusión**: Dentro de la proteínas que se puede aislar de *B. abortus* destaca una de 18,5 kDa, que induce una buena respuesta proliferativa y que correspondería a la SOD. Esta proteína puede ser una proteína candidata a un componente de una vacuna subcelular. Aquí se ha estudiado el rol de esta proteína expresada en *E. coli* en la protección de ratones a la infección por *Brucella abortus*.

Financiado por Proyecto Fondecyt Nª 1961146. Direccción de Investigación U. de Concepción Nº 96.036.002-1.1D.

FENOTIPOS MULTIENZIMATICOS DE CEPAS DE *Frankia* AISLADAS DE PLANTAS ACTINORRICICAS SUDAMERICANAS (Multienzyme phenotypes of *Frankia* strains isolated from South American actinorhizal plants)

Carú, M[1]; Sepulveda,D[1] & Becerra, A.[2]
1. Depto. Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Casilla 653, Santiago.
2. Facultad de Cs. Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.

Frankia es una actinomycete que fija nitrógeno atmosférico en simbiosis con plantas pertenecientes a 8 familias de angiospermas dicotiledoneas (no-leguminosas). Varias cepas del microsimbionte han sido aisladas, en nuestro laboratorio, partir de nódulos radiculares de plantas actinorrícicas nativas de Sudamerica. Todas ellas muestran gran uniformidad morfológicas, con las estructuras características del género *Frankia*. El objetivo de este trabajo es explorar el valor de los patrones electroforéticos de diferentes sistemas enzimáticos en la identificación de cepas bacterianas. Para ello se analizaron cepas aisladas de las siguientes especies vegetales que crecen en Chile y Argentina : *Trevoa trinervis, Retanilla ephedra, Colletia hystrix, Talguenea quinquinervis, Discaria trinervis y Alnus acuminata.* Además, se incluye una cepa de referencia aislada de Casuarina equisetifolia. Todas las cepas en estudio son genéticamente homogéneas ya que derivan de una sola espora. Los extractos crudos de cada cepa fueron preparados a partir de cultivo exponenciales de 15 días a 28ºC sin agitación. Las proteínas fueron separadas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 10% y teñidas diferencialmente para las actividades enzimáticas: α y β esterasa (EST), malato deshidrogenasa (MDH), diaphorasa (DIA), fosfoglucoisomerasa (PGI), isocitrato deshidrogenasa (IDH), menadiona reductasa (MNR), fosfoglucomutasa (PGM) y leucina aminopeptidasa (LAP). Todas los sistemas enzimáticos estudiados muestran algún grado de variación entre las cepas. Algunos de ellos como MNR muestran múltiples electromorfos, otros como PGI muestran una sola banda pero con migración diferente según la cepa. Los resultados indican que los fenotipos multienzimáticos pueden ser útiles en la identificación de las cepas o como marcadores en estudios genéticos.

RESISTENCIA A FITOPATOGENOS INDUCIDA EN PLANTAS POR BACTERIAS GRAM-POSITIVAS (Induced resistance in plants by Gram-positive phytopathogens)

Alarcón, C., Castro, J y Delgado, J.H. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago, Chile.

La respuesta hipersensible en plantas es una respuesta inducida de resistencia a un patógeno. Esta se desencadena cuando un receptor, presente en la planta, reconoce e interactúa con un factor o elicitor producido por el patógeno. Una característica de esta respuesta es la rápida muerte de células en torno al área de infección, lo que permite bloquear su dezplazamiento y posterior desarrollo de la enfermedad. La respuesta de resistencia inducida por bacterias ha sido estudiada principalmente con patógenos Gram-negativos, existiendo escasa información con respecto a bacterias Gram-positivas. Nuestro laboratorio describe, por primera vez, proteínas del fitopatógeno Gram-positivo *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* capaces de inducir una respuesta de resistencia en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) y Bella de la noche (*Mirabilis jalapa*). Estas proteínas inductoras han sido encontradas en el sobrenadante del cultivo bacteriano, sugiriendo su secreción al medio extracelular. La actividad inductora fue sensible al tratamiento con proteasas (pronasa y proteinasa K) y estable luego de ser expuesta a temperaturas de 100ºC por 10 min. Ensayos biológicos de dicha actividad, enfrentando a lo menos 8 plantas de distintos géneros, indican una especificidad para *N. tabacum* y *M. jalapa*. Mediante cromatografía de filtración molecular la actividad puede ser separada en tres fracciones, correspondientes a pesos moleculares de 440; 105 y 20 kDa. Esto sugiere la presencia de más de un elicitor. Finalmente, la actividad inductora aquí descrita comparte algunas características con los encontradas en bacterias Gram-negativas, sugiriendo semejanzas a nivel de sus mecanismos moleculares de acción.

ESTUDIO DE LA RELACION ENTRE LAS PROTEINAS DE LA MEMBRANA EXTERNA DE *SALMONELLA TYPHI* INDUCIDAS EN ANAEROBIOSIS Y EL PROCESO DE INVASION A CELULAS EPITELIALES HUMANAS (Study of the relationship between the outer membrane proteins of *Salmonella typhi* induced under anaerobic conditions and the ability to invade human culture cells).

Maulén, N.P., Santiviago, C.A. y Mora G.C. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago, Chile.

S.typhi causa la fiebre tifoídea en el hombre, único hospedero y reservorio natural de este microorganismo.Para desarrollar estrategias más efectivas de prevención y control de la fiebre tifoídea. es necesario llegar a conocer en profundidad los mecanismos involucrados en la patogénesis de *S.typhi*, referidos a las dos etapas clave del ciclo infectivo: invasión de células epiteliales y sobrevida en el macrófago. Nuestro laboratorio demostró que *S.typhi* Ty2 crecida en anaerobiosis aumenta su invasividad a células HEp-2. Además, se confirmó la inducción de al menos 5 proteínas de la membrana externa (ME) por esta condición ambiental, lo que nos llevó a proponer la siguiente hipótesis: Proteínas de la ME de *S.typhi*, inducidas en anaerobiosis, contribuyen a la invasividad de este patógeno. Para identificar la (s) proteína(s) de la ME inducidas en anaerobiosis y evaluar el efecto de su mutación sobre la capacidad invasiva de la bacteria, se usó la siguiente estrategia: Proteínas de la ME de *S.typhi* crecidas en condiciones que potencian su invasividad, se aislan por electroforesis en geles de poliacrilamida-SDS y se transfieren a membrana de PVDF, para secuenciar el N-terminal de las proteínas seleccionadas. Paralelamente, se diseñó una sonda de DNA, para realizar una mutagenización sitio dirigida o transducir el gen de interés mutado desde *S.typhimurium* a *S.typhi* Ty2 mediante el fago P22. Se han identificado 3 proteínas, cuyas masas moleculares son 96, 46 y 44 kDa. Estas son homólogas a AdhE, MalL y PhoE de *S.typhimurium*, respectivamente. La transducción de la mutación *adh*E::Tn10 desde *S.typhimurium* a *S.typhi* no afecta en esta última la capacidad invasiva a células HEp-2. Hasta ahora hemos identificado proteínas tales como MalL y PhoE cuyas inducciones no habían sido relacionadas con anaerobiosis. Por el contrario, la inducción de AdhE en anaerobiosis había sido reportada solo en *E.coli* y *S.typhimurium*.

Trabajo financiado por proyecto FONDECYT 1960255 y FONDECYT 2970038.

AISLAMIENTO DE MUTANTES AUXOTROFOS DE *Phaffia rhodozyma* MEDIANTE ENRIQUECIMIENTO CON NISTATINA. (Isolation of auxotrophic mutants of *Phaffia rhodozyma* by nystatin enrichment).

Retamales, P.; León, R.; Martínez, C.; Hermosilla, G. and Cifuentes, V. Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Las Palmeras 3425, Casilla 653, Santiago. e-mail: vcifuent@abello.dic.uchile.cl; WebSite: http://codon.ciencias.uchile.cl/lgen.html

Phaffia rhodozyma es una levadura basidiomicete productora de carotenoides cuyo ciclo reproductivo sexual ha sido recientemente descrito y en el cual se observa que forma holobasidia con basidiosporas terminales. El conocimiento de su genética es escaso y sólo han surgido estudios en algunos aspectos tal como la caracterización de sus cromosomas mediante CHEF, análisis de complementación mediante fusión de protoplastos, análisis de isoenzimas, RFLP y polimorfismo de DNA mediante RAPDs. Además, se han desarrollado algunos métodos de transformación genética, detectándose eventos de integración múltiple del DNA dador en su genoma. Por otra parte, existen pocos mutantes en genes que puedan ser utilizados como marcadores genéticos, principalmente aquellos de auxotrofía y morfológicos o de color. Los mutantes auxótrofos junto a los morfológicos pueden ser herramientas valiosas para el estudio de la genética de *P. rhodozyma*. En el presente trabajo se describe el aislamiento de mutantes auxótrofos mediante enriquecimiento con nistatina. Para ello, la cepa silvestre y mutantes de carotenogénesis fueron sometidos a mutagénesis con NTG seguido de un período de hambruna y luego tratamiento con nistatina. Como resultado se logró aislar 29 mutantes auxotrofos: 7 auxotrofos de la cepa silvestre, 5 de una cepa albina (atx3), 1 que requiere nicotinamida de otra cepa albina (atx8), 1 ade- de una cepa amarilla (atx5), 8 auxótrofos de otra cepa amarilla (atx6) y 7 auxótrofos de una cepa amarilla (atx10). Experimentos de fusión de protoplastos entre los dobles mutantes: atx3,aux- (albino, auxótrofo) y atx5,ade- (amarillo que requiere adenina), permitió aislar fusantes de fenotipo silvestre tanto para pigmentos como protótrofos. Los resultados sugieren que se dispone de marcadores genéticos que podrán ser utilizados en procedimientos de selección directa.

Financiado en parte por el proyecto Fondecyt 197-0456

DESARROLLO DE SISTEMAS DE VECTORES PLASMIDIALES PARA EXPRESION DE ANTIGENOS DE *Helicobacter pylori* EN CEPAS DE *E. coli* y *Salmonella*. (Development of plasmid vector systems for expression of *Helicobacter pylori* antigens in *E. coli* and *Salmonella* strains).

Ruth García, Soledad Urra, Isabel Gómez y Alejandro Venegas. Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Nuestro interés se centra en el desarrollo futuro de una vacuna oral viva contra la infección por *Helicobacter pylori,* utilizando una cepa atenuada de *Salmonella* capaz de expresar antígenos de este patógeno gástrico. Como etapa inicial fue necesario el diseño de vectores de expresión constitutiva de genes foráneos que a la vez carezcan de marcadores de resistencia a antibióticos debido a las inconveniencias de su utilización *in vivo*. Con este fin se han modificado plásmidos mediante la inserción del gen de la aspartato semialdehído deshidrogenasa (*asd*) de *E. coli*, que participa en la via de síntesis del ácido diaminopimélico (DAP) y algunos aminoácidos. Así, en una bacteria hospedera *asd-*, el gen *asd+* actúa como marcador de selección *in vivo,* debido a que los tejidos animales no sintetizan DAP. Una cepa atenuada de *Salmonella asd-* permitirá la mantención estable del plásmido asd+ y la expresión de genes de antígenos protectores de *H. pylori* luego de inoculación de la cepa vacuna. El gen *asd* de *E. coli* se amplificó por PCR y se insertó en los plásmidos pBR329, pCRII y pSE280, complementando adecuadamente a las cepas de *E. coli* χ6212 y *Salmonella typhimurium* χ4550, ambas *asd-*. Posteriormente, el gen *asd* se ha ligado directamente en vectores plasmidiales con los genes *cagA*, *vacA*, *mp26*, *ureA* y *ureB* de *H. pylori* y luego de la transformación, se ha comparado su expresión *ex vivo* en cepas de *E. coli* y *Salmonella* con o sin el gen *asd.* Para esto, ya que los genes de *H. pylori* están bajo el control del promotor del fago T7, se ha utilizado el sistema de transformación doble, con el plásmido pGP1-2 que provee la RNA polimerasa T7 para la expresión de dichos genes. A la fecha se ha detectado un nivel apropiado de expresión de algunos de estos genes en *E. coli*. La expresión en *Salmonella* está aún en evaluación.

Financiado por FONDECYT, proyecto #1960342. R.G. es becaria de la Universidad de las Naciones Unidas.

INTERACCION DE *Alteromonas atlantica* CON IONES METALICOS (Interaction between *Alteromonas atlantica* and metal ions)

D. Cotoras, P. Viedma y G. Corvetto
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La bacteria marina *Alteromonas atlantica* (anteriormente llamada *Pseudomonas atlantica*) posee la capacidad formar películas bacterianas sobre superficies sólidas inertes. Se ha descrito su participación en la formación de biopelículas marinas, en las cuales juega el papel de colonizadora primaria. La unión a la superficie es mediada por un polisacárido extracelular que presenta numerosos grupos cargados en forma negativa. Debido a esta característica, las películas formadas son capaces de unir iones metálicos. La interacción de los iones metálicos con las biopelículas marinas tienen importantes implicancias ambientales y tecnológicas. Por esta razón, estudió el efecto de distintas condiciones de cultivo sobre la capacidad de esta bacterias de unir cationes y producir polisacáridos extracelulares. Se cultivaron 2 cepas de *A. atlantica* (ATCC 19262 y T2b) en agua de mar con peptona (0,5%) y azúcar (1%). Los parámetros determinados fueron biomasa, cantidad de azucares totales de la biomasa y remoción del ión uranilo. Los experimentos de biosorción de uranio se realizaron con bacterias lavadas y resuspendidas en la solución de nitrato de uranilo 0,4 mM. Se encontró que ambas cepas de *A. atlantica* son capaces de remover uranio. La unión de metales y la producción de polisacáridos extracelulares dependen de la fase de cultivo, el tipo y concentración de la fuente de carbono, la relación C/N, la concentración de calcio y el grado de dilución del agua de mar. No se encontró una relación constante entre la cantidad de polisacárido unido a la bacteria y el nivel de biosorción de uranio. Al tratar las bacterias que contenían uranio, se logró sólo un 73% de desorción. Lo anterior lleva a pensar que, ademas de la unión al polisacarido extracelulas, puede existir otro mecanismo que participa en la unión de uranio por *A. atlantica*.

LA INSERCION CROMOSOMAL DEL CASSETTE GENICO *tfd*CDEF DE *Ralstonia eutropha* JMP134 (pJP4) PERMITE LA DEGRADACION DE CLOROCATECOLES EN *Pseudomonas putida*. (Chromosomal insertion of a *Ralstonia eutropha* (pJP4) *tfd*CDEF gene cassette allows chlorocatechol degradation in *Pseudomonas putida*.)

Varela, C., Céspedes, R. & González, B.
Laboratorio de Microbiología. Departamento de Genética Molecular y Microbiología.
Facultad Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile

La mayoría de los compuestos cloroaromáticos son tóxicos y resistentes a la degradación. *Pseudomonas putida* KT2442 degrada benzoato pero es incapaz de mineralizar clorobenzoatos, ya que se acumulan intermediarios tóxicos como clorocatecoles y protoanemonina. Por otro lado, el operón catabólico *tfd*CDEF, codificado en el plasmidio pJP4, de *Ralstonia eutropha* JMP134 le permite a esta bacteria degradar clorocatecoles. En este trabajo se describe la inserción cromosomal estable, mediante el sistema de transferencia mini-Tn5, de dos cassettes de DNA conteniendo el operón *tfd*CDEF, uno bajo el conrol del promotor Ptrc, inducible por IPTG y otro bajo el promotor Psal, inducible por salicilato. Las enzimas de ambos cassettes (clorocatecol-1,2-dioxigenasa, cloromuconato cicloisomerasa, dienolactona hidrolasa y maleilacetato reductasa) fueron expresadas semiconstitutivamente y respondieron a los respectivos inductores. La expresión de las enzimas de este operón, aclopadas con la actividad benzoato dioxigenasa endógena, permitieron la degradación de 3-clorobenzoato, aumentando las capacidades degradativas en esta bacteria.
Financiado por proyecto FONDECYT 1960262. Ricardo Céspedes es becario de Fundación Andes.

RESISTENCIA A AMINOGLICOSIDOS EN CEPAS DE *Acinetobacter baumannii* AISLADAS EN CONCEPCION. (Aminoglycoside-resistance among isolates of *A. baumannii* from Concepcion)

Muñoz, M., González, G., Bello,H., Domínguez, M., y Zemelman, R.
Depto. Microbiología. Facultad Ciencias Biológicas. U. de Concepción. Casilla 152-C, Concepción. Fax: 41-245975.

En Chile *A. baumannii* es un patógeno intrahospitalario prevalente. Su multiresistencia incluye cefalosporinas de tercera generación, ciprofloxacina y aminoglicósidos. La base genética de la multiresistencia no está determinada, ya que no se ha relacionado la amplitud del fenotipo de resistencia con el contenido de plásmidos de las cepas. En este trabajo se estudió la actividad de estreptomicina (SM), dibekacina (DK), amikacina (AK), kanamicina (KM), netilmicina (NM) y gentamicina (GM) sobre 97 cepas de *A. baumannii* aisladas en el Hospital "Dr. Guillermo Grant B." de Concepción, por un método de dilución seriada en agar (NCCLS, 1994). Se realizó curación con temperatura elevada a algunas cepas y se estudió su perfil plasmídico. Se encontró un elevado porcentaje de cepas resistentes, con CMI_{50} y CMI_{90} que fluctuaron entre 128 y > 256 ug/ml, respectivamente. Los porcentajes de resistencia variaron entre 63,5% (AK) y 89,7% (GM). Se encontraron 20 fenotipos de resistencia. El más frecuente de éstos (48%) incluye a todos los aminoglicósidos. Se obtuvo curación de resistencia a AK y KM. En cambio para NM sólo se observó una disminución de su CMI. Para los otros aminoglicósidos no hubo curación. Se concluye que la frecuencia y nivel de resistencia a aminoglicósidos en cepas de *A. baumannii* son elevados y algunos determinantes genéticos de esta resistencia parecen estar codificados en plásmidos.
Financiado por Proyecto FONDECYT 1970848.

Microbiología Médica Humana y Veterinaria

***Escherichia coli* AISLADA DE CERDO. CEPAS PRODUCTORAS DE HEMOLISISNAS Y SU RELACION CON LA SINTESIS DE TOXINAS*).** (*Escherichia coli* isolated from pigs. Hemolysin producing-strains and its relationship with the toxin synthesis).

Justo Zamora, Germán Reinhardt, Mireille Polette y Pamela Macías.
Instituto de Microbiología. Fac. de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia, Chile.

Se determinó el tipo de hemolisina a 74 cepas hemolíticas de ***E. coli*** aisladas de cerdos sanos y con trastornos diarreicos. Con este objeto se sembraron en placas de agar-sangre cerebro corazón con 10 mM de $CaCl_2$ y 5% de sangre entera de cordero y también con eritrocitos lavados en PBS (adicionadas o no con 25 µg/ml de ác. nalidíxico). Además, se detectó la hemólisis en caldo cerebro corazón con 5% de sangre de cordero. Las siembras se incubaron a 37ºC, observando la hemólisis a las 4-6 h y 24 h. La producción de toxina ST se pesquisó mediante la técnica del ratón lactante y las toxinas LT y VT por inoculación de extractos en monocapa de células Vero y por peuebas de aglutinación látex con antisueros respectivos. Además, se determinó el serotipo y fimbrias por pruebas de aglutinación. El 18,92% (14 cepas) de las hemólisis corespondió a la alfahemolisina (AH), el 24,32% (18 cepas) presentó betahemólisis (BH), el 29,73% (22 cepas) fue gammahemolítica (GH) y el 27,03% (20 cepas) produjo enterohemolisina (EH). Entre las cepas AH, 2 eran VT y 8 correspondieron al serotipo O:149:K91;K88ac. De las BH, 2 eran K89 y otras 2 produjeron ST. Entre las GH, 4 elaboraron ST y 4 VT, 2 de las cuales pertenecían al serotipo O149:K91;K88ac. No se detectaron serotipos entre las EH, 12 de las cuales produjeron VT, 2 sintetizaron VT y LT simultáneamente y 2 elaboraron ST y VT en forma simultánea. Consecuentemente, el 80% de las cepas EH produjeron VT, indicando que existe una estrecha relación como lo describe la literatura.

**) Proyectos FONDECYT 1951150 y DID UACH PEF-97-12.*

INFECCION RESPIRATORIA INTRAHOSPITALARIA POR ADENOVIRUS 7 H. (Nosocomial acute respiratory infections for adenovirus 7h)

MA Palomino, C.Larrañaga, LF Avendaño.
Depto. Microbiología y Pediatría Norte. Fac. Medicina U. de Chile Casilla 9183. Correo Central. Santiago. Chile

En Chile los adenoviruses (AD) son la 2a causa hospitalización pediátrica por infección respiratoria aguda baja (IRAB). Desde 1988 se está haciendo una vigilancia de virus respiratorios mediante aislamiento viral (AV) e inmunofluorescencia (IF) de muestras de aspirado nasofaríngeo (ANP), en niños menores de 2 años ingresados por IRAB al hospital R. del Río, Santiago. De 2.781 casos estudiados, el promedio mensual de detección de AD fue 14%. Mediante enzimas de restricción se determinaron los serotipos más frecuentes: 1,2,3,5 y 7; el genotipo 7h representó el 56% de los aislados. **Objetivo.** Conocer la tasa de ataque secundario intrahospitalaria. **Método**. Entre mayo 95 y oct.96 se tomaron muestras de ANP al ingreso y al día siguiente a los niños menores de 2 años ingresados por IRAB. Ante un caso positivo se tomó ANP a los contactos de la sala 2 veces por semana por 2 semanas. Las muestras se analizaron por IF, AV y las positivas se genotipificron. **Resultados.** Se identificaron 15 casos índices y 65 contactos. La tasa de ataque secundario fue de 55%. Hubo 4 casos fallecidos, que tenían enfermedades previas (letalidad 11%). Se han logrado genotipificar 10 casos índices y 19 contactos, resultando todos 7h. **Conclusiones.** La alta contagiosidad observada realza la necesidad de contar con diagnóstico rápido y aislamiento individual, para evitar la diseminación intrahospitalaria del AD

Proyecto FONDECYT 194 0527

PREVALENCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINO RESISTENTES EN CEPAS AISLADAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS EN EL HOSPITAL BASE DE VALDIVIA DURANTE EL 2º SEMESTRE DE 1995. (Prevalence of Methicillin-Resistance *S. aureus* strains isolated from hospitalized patients at the Valdivia County Hospital, during last half 1995).

L.Otth[1], G. Wilson[1], A. Zaror[2], M.E. Arce[2] y V. Lizama[2]
[1]Instituto de Microbiología Clínica, Fac. de Medicina, Universidad Austral de Chile.
[2]Sección Microbiología, Laboratorio Central, Hospital Base de Valdivia.

Durante los meses de Julio a Diciembre de 1995 se aislaron 132 cepas de *S. aureus* de diferentes pacientes hospitalizados en los distintos servicios del Hospital Base de Valdivia. A todas las cepas se les realizó el «Oxacillin Screen Plate» bajo condiciones rigurosamente controladas, con el fin de detectar cepas de *S. aureus* Meticilino-resistentes (SAMR). En forma simultánea se les determinó sensibilidad cualitativa «in vitro» a Oxacilina y Ampicilina+Sulbactam por el método de Kirby-Bauer, con el fin de diferenciar resistencia a oxacilina por hiperproducción de β-lactamasa o por presencia de una PBP2a. Con el «Oxacillin Screen Plate» se encontró 44 cepas (33,3%) de SAMR; con el antibiograma cualitativo las mismas cepas fueron resistentes a los antibióticos estudiados, por lo que se deduce que la resistencia sería debido a la presencia del gen mec que induce a la formación de una PBP alterada, la PBP2a. Analizando los servicios de procedencia de los pacientes en que se aisló SAMR, la mayor prevalencia se observó en el Servicio de Medicina (31,8%), seguido por Cirugía (22,7%) y UCI (15,9%).

PROYECTO DID-UACh S-93-08.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* DE DISTINTO ORIGEN* (Comparative study of the antimicrobial susceptibility in vitro of different strains of *E. coli*).

M. Wilson[1], L. Otth[1], R. Ortíz[1], A. Zaror[2], V. Palma[2], M.E. Arce[2] y V. Lizama[2]
[1]Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.
[2]Sección Microbiología, Laboratorio Central, Hospital Base de Valdivia.

Con el pasar de los años y debido a diferentes factores, los microorganismos han ido aumentando su resistencia a los antibióticos; especialmente por el uso constante, inadecuado e irracional de ellos. Esto hace necesario un continuo control de los patrones de sensibilidad con el fin de mantener referencias actualizadas que ayuden a conformar terapias eficaces. En este trabajo se estudió la susceptibilidad cuantitativa in vitro de 64 cepas de *Escherichia coli* aisladas en el laboratorio del Hospital Base de Valdivia y 68 cepas aisladas de laboratorios privados de la ciudad de Valdivia. Se ensayaron 11 drogas antimicrobianas mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria, utilizando el método cuantitativo de dilución en agar. Las drogas más efectivas fueron amikacina, cefotaxima, aztreonam, ceftriaxona y cefoperazona y las con menor actividad in vitro fueron cefradina, ampicilina y cotrimoxazol. Las cepas aisladas en el laboratorio del Hospital Base fueron levemente más resistentes que las de los laboratorios privados.
**PROYECTO DID-UACh S-93-08*

PACIENTES CON RINITIS EN CONIN (Rinitis in patients of CONIN)

Angela Tejero[1], Maritza Navarrete[2], Ana Gallardo[1] y Catalina Valenzuela[2]
[1]Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.
[2]Médico Tratante y Matrona de CONIN-Valdivia.

La rinitis es una de las enfermedades más frecuentes de las vías respiratorias altas, especialmente en pacientes pediátricos. Son de diversa etiología, siendo las virosis unas de las más frecuentes, actuando como portal de entrada en la colonización y multiplicación de diferentes microorganismos patógenos. El presente estudio tiene como objetivo pesquisar en un centro asistencial infantil como es CONIN, la prevalencia de los microorganismos nasofaringeos en pacientes con rinitis (n=80) y sin rinitis (n=30). Se analizaron los resultados en cuatro grupos: cepa pura de patógenos; asociación de cepas patógenas; cepas patógenas más microbiota normal y finalmente el de microbiota normal. El porcentaje más alto de los casos con rinitis, 47,5%, fue del grupo de asociación de microorganismos patógenos a diferencia de los pacientes sin rinitis que sólo fue en este grupo de un 6,7%. La asociación de microorganismos patógenos más aislado fue el de *Streptococcus pneumoniae* más *Moraxella catarrhalis* con un 36,3%, siendo esta dupla, en el aislamiento de los pacientes sin rinitis de sólo un 3,3%. Sólo se aisló *H. influenzae* en los pacientes con rinitis, ya sea unido a patógenos o con microbiota normal en el 10% de los casos.
PROYECTO DE EXTENSION 1501-95

ADHERENCIA DE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* Y *CAMPYLOBACTER COLI* DE DIVERSOS ORIGENES A CELULAS HEp-2 (Adherence of *campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from different origins to HEp-2 cells)

[1]**Heriberto Fernández**, [1]Carmen G. Millas, [2]Gisela Eller, [3]Marlene Barros de Assis.
Instituto de [1]Microbiología Clínica e [2]Inmunología. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile.[3]Universidade Federal do Pará. Brasil.

Campylobacter jejuni y *C. coli* son enteropatógenos prevalentes para el ser humano. La invasión y la producción de enterotoxina han sido descritos como factores de virulencia. La adherencia al epitelio intestinal parece ser el evento inicial del proceso infeccioso y ha sido propuesto como otro factor de virulencia en *Campylobacter*. En este estudio nos hemos propuesto determinar la capacidad de adherencia de 85 cepas de *Campylobacter* a células HEp-2, cuantificando el fenómeno según especie y origen. Los ensayos se realizaron en monocapas de células HEp-2 las que fueron inoculados con las bacterias en estudio e incubadas por 3 hrs a 37ºC en 5% de CO2. Luego, fueron lavadas (5x) con PBS, fijadas con metanol (15 min) y teñidas con May Grünwald-Giemsa. La adherencia se cuantificó determinando el porcentaje de células HEp-2 que presentaron bacterias adheridas y el número de bacterias (±SD) adheridas por célula. El 85,8 % de las cepas fueron adherentes y el fenómeno de adherencia se observó en todos los grupos de cepas estudiadas. El 76,6% correspondió a *C. jejuni* y el 8,2% a *C. coli*. Las cepas aisladas de gorrión y humano fueron las más adherentes con un rango de adherencia del 56-91% y del 28-86% respectivamente. Las cepas aisladas de agua presentaron el porcentaje de adherencia más bajo (41-47%). Se concluye que las cepas estudiadas presentan capacidad de adherencia, independientemente de su origen, lo cual refuerza el carácter zoonótico de *Campylobacter*.

Proyectos FONDECYT 1930353; DID-UACH S-92-05

"PREPARACION DE ANTIGENO, PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA LA CITOTOXINA VACUOLIZANTE DE *H.pylori*" (Antigen preparation to detect antibodies to *H. pylori* vacuolating citotoxin)

C. López, G. Figueroa, M.S. Toledo and M. Troncoso. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile. Casilla 138 Santiago 11.

La citotoxina vacuolizante VacA (87kDa) de *H.pylori (Hp)* es reconocida como un importante factor de virulencia, esta se asocia a otra proteína CagA (120-130kDa). In vitro, el cultivo líquido tiene muy bajo rendimiento y además requiere de sangre o suero de caballo, cuyos componentes interfieren en la detección de la citotóxina (87kda) mediante SDS PAGE. Este estudio se efectuó para definir un medio de cultivo líquido, para optimizar la producción de citotoxina de *Hp* sin la adición de suero de caballo. En reemplazo del suero de caballo las cepas de *Hp* fueron crecidas con ciclodextrina y para potenciar la producción de citotóxina se adicionó glucosa y peptona en distintas concentraciones. **Métodos:** Se evaluaron 13 cepas de *Hp,* que fueron cultivadas en caldo Brucella con ciclodextrina (0,1%), adicionada de glucosa o peptona al 0,5%, 1% y al 3%, se incubó a 37ºC en microaerofilia por 3 días. La densidad de los cultivos se determinó por absorbancia a 530 nm. La actividad citotóxica se determinó en células Hela y por electroforesis (SDS PAGE), luego de concentrar los filtrados por precipitación al 50% con sulfato de amonio y dializarlos (6.000-8.000kDa) en PBS salino. **Resultados:** Las cepas de *Hp* crecieron muy bien con ciclodextrina y mejor en presencia de glucosa al 1% con absorbancias promedio de 0.063 y concentración de total proteínas de 2mg/ml. Las bandas correspondientes a VacA (87kda) y CagA (120KDa) se visualizaron en 10/13 cepas (77%). No obstante se observó actividad citotóxica solo en 6/13 cepas (46%). **Conclusión:** El caldo Brucella con ciclodextrina permite un óptimo desarrollo de *Hp*. Al adicionar glucosa al 1%, mejora el crecimiento y por ende la producción de citotóxina. El uso de ciclodextrina impide las interferencias para la visualización de las bandas proteicas y por lo tanto mejora la caracterización de los antígenos relevantes de *Hp*.

Este trabajo es parte de la Tesis de la autora y se ejecutó en el contexto del Proyecto Fondecyt 195/0249.

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL SUERO HUMANO EN *Acinetobacter baumannii*. (Study on the resistance to bactericidal activity of human serum in *Acinetobacter baumannii*).

Apolinaria García C., Carlos González C., Henry Solar R. y Raúl Zemelman Z.
Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 152-C, Concepción.

La especie *Acinetobacter baumannii* es considerada un patógeno emergente, que adquiere cada día mayor interés como agente de infecciones nosocomiales. Los mecanismos de virulencia de la especie no están completamente dilucidados y gran parte de los estudios tienen como objetivo conocer dichos factores de virulencia. En este trabajo, se estudió el mecanismo de resistencia a la acción bactericida del suero humano normal en cepas de *A. baumannii* de diferentes biotipos, aisladas de procesos septicémicos de pacientes provenientes de hospitales chilenos. Se investigó, además, la actividad antibacteriana del suero inactivado y del suero con la vía clásica inhibida, así como el efecto que tiene la disminución de la síntesis de exopolisacárido y de lipopolisacárido en las cepas sobre su resistencia a la acción bactericida del suero humano normal y del suero con la vía clásica inhibida. El análisis de los resultados obtenidos permite concluir que las cepas *A. baumannii* presentan una resistencia intrínseca al complemento. En la mayoría de las cepas, esta resistencia al suero fue independiente de estructuras de envoltura como el lipopolisacárido o el exopolisacárido. Sólo en dos de las once cepas estudiadas, las estructuras mencionadas contribuyeron a la resistencia al suero.
Fianaciado por los proyectos FONDECYT N°2950031 y N°1951044.

MECANISMOS DE ADHERENCIA DE *Acinetobacter baumannii* A TEJIDO DE TRAQUEA DE RATA. (Mechanisms of adherence of *Acinetobacter baumannii* to rat tracheal tissue)

Ruíz, M., Sepúlveda, M., Bello, H., Dominguez, M., González, G. y Zemelman, R.
Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Acinetobacter baumannii ocupa la tercera frecuencia de aislamiento entre los bacilos Gram negativo multiresistente nosocomiales, con claro predominio de los biotipos 9 y 8. Una de las infecciones más frecuentes que causa esta bacteria afecta al tracto respiratorio. Sus mecanismos patogénicos no se conocen, pero su adherencia a los tejidos, mediada por estructuras filamentosas como fimbrias, o no filamentosas, como proteínas de membrana externa, exopolisacáridos, etc., puede ser determinante en la producción de la enfermedad. En este trabajo se pretenden conocer los mecanismos de adherencia de *A. baumannii* a tejido de tráquea de rata. Se ensayaron cepas de biotipos 9 y 8, introduciendo trozos de tráquea de rata de aproximadamente 20-30 mg en una suspensión bacteriana que contenía 10^8 ufc/ml de una cepa cultivada en presencia y ausencia de subsalicilato de bismuto, conocido inhibidor de síntesis de polisacáridos. Posteriormente, se repitieron las experiencias de adherencia con los cultivos tratados previamente con manosa y galactosa. Después del ensayo de adherencia, los trozos de tráquea se lavaron y sonicaron y se efectuaron recuentos de las bacterias liberadas por sonicación. Los recuentos de las cepas tratadas no se diferenciaron significativamente de los correspondientes a los controles. Se postula la existencia de alguna acción combinada de diferentes mecanismos de adherencia. Así, la ausencia de exopolisacárido puede aumentar la adherencia mediada por fimbrias, al quedar éstas más expuestas al tejido. Se concluye que la adherencia de *A. baumannii* a tejido de tráquea de rata es un proceso complejo y mediado por varios mecanismos en forma simultánea.
Financiado por Proyecto FONDECYT 1951044

EVALUACION DE PROTECCION VACCINAL EN BURSITIS INFECCIOSA AVIAR USANDO INDICE R_{bo} y PROCESAMIENTO DE IMAGENES. (Evaluation of Protection of Infectious Bursal Disease vaccine using R_{bo} an Image Processing Technique).

CUBILLOS A.; STEWART-BROWN B. y P.SALAZAR. Facultad Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. FAX 63-221220.

El Procesamiento de Imágenes Computarizada (PIC), se utiliza para medir cantidades de linfocitos en cortes histológicos de bursa , evaluando así programas de vacunación a que son sometidas las aves frente al posible desafío del virus Bursitis Infecciosa Aviar. El objetivo de este trabajo es comparar dos sistemas de evaluación de programas de inmunización en la Enfermedad de Gumboro, el Indice R_{bo} (Peso de bursa/ Peso corporal x 1000) con el PIC. Se utilizaron 60 pollos SPF de 15 días de edad, mantenidos en unidades de aislamiento y divididos en los siguientes grupos: **Experimental** (20 pollos inmunizados con vacuna comercial y desafiados con cepa nacional G-3),**Control negativo** (10 pollos sin vacuna y desafío), **Control positivo** (20 pollos desafiados) y **Control vacuna** (10 pollos sólo vacunados). Quince días posterior a la vacunación, las aves se desafiaron con una dosis oral de 10^3 DIE_{50} /ave de la cepa G-3. Al tercer día post vacunación los pollos fueron pesados se sacrificaron y se extrajo la bursa, determinándose el indice R_{bo} de cada ave. Las bursas fueron fijadas en formalina tamponada y teñidas con hematoxilina/eosina para su posterior estudio por PIC. Para la evaluación de la protección vaccinal se utilizó como referencia, el valor obtenido al restar 2 desviaciones estándard del índice R_{bo} promedio del Control positivo. Se consideraron protegidos, los pollos del grupo vacunado y desafiado que presentaron valores superiores al referencial. Los resultados del Indice R_{bo} indicaron diferencias significativas entre el grupo expeimental y sus controles, lo cual también se repitió en el estudio según PIC. Al calcular el porcentaje de protección de la vacuna frente al desafío con G-3, resultó para el Indice R_{bo} un 100% de protección y para el PIC un 95%, demostrándose con ello la alta correlación de ambas técnicas

CARACTERIZACION DEL PATOTIPO DE DOS CEPAS DE VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE (ENC) (Pathotype characterization of two strain of Newcastle Diseases virus)

J. Ulloa, V. Hernández, R. Aguilar
Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia.

Desde el año 1991, Estados Unidos reconoce al país como libre de las cepas patógenas (velogénicas vicerotrópicas) del virus de la ENC, motivo por el cual, se consideró de interés estudiar las características de patogenicidad de dos aislados de campo del virus de la ENC. Las cepas se aislaron en huevos embrionados Libres de Patógenos Específicos (SPF), de muestras de tráquea que provenían de dos planteles de pollos broiler, que presentaban signos respiratorios y diagnóstico presuntivo de Bronquitis infecciosa. Los aislados fueron identificadas como virus de la ENC, por la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación. La caracterización del patotipo se realizó a través de las siguientes determinaciones: Tiempo medio de mortalidad embrionaria en huevos SPF, índice de patogenicidad intracerebral en pollos SPF inoculados al día de edad, índice de patogenicidad intravenosa e intracloacal en pollos SPF de 6 semanas de edad. En el primer ensayo se utilizaron como controles huevos embrionados SPF, inoculados con la cepa vacunal B1 del virus de la ENC y sin inocular y en los ensayos con aves, pollos SPF inoculados con la cepa La Sota del virus ENC y pollos sin inocular. En las cuatro experiencias, los resultados obtenidos con ambos aislados y las cepas vacunales fueron similares, demostrándose que las cepas en estudio correspondían al patotipos no patógenos (lentogénico) y probablemente de origen vacunal.

ADHERENCIA DE *Acinetobacter baumannii* DE DIFERENTES BIOTIPOS A TEJIDO VESICAL DE RATA. (Adherence of different biotypes of *A. baumannii* to rat bladder tissue)

Sepúlveda M., Ruíz, M., Bello H., Domínguez M., González G., Zemelman R.
Depto. Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, U. de Concepción. Casilla 152-C, Concepción. Fax 41-245975.

A. baumannii es un patógeno oportunista que causa serios problemas intrahospitalarios por producir infecciones que afectan principalmente a las unidades de cuidados intensivos. En Chile los biotipos 9 y 8 son los más frecuentes (57% y 24 %, respectivamente). Actualmente no se conoce con exactitud que factores y propiedades de estos biotipos de *A. baumannii* favorecen su virulencia y prevalencia. En este trabajo se investigó la capacidad de adherencia a tejido vesical de rata de 39 cepas de *A. baumannii* de diferentes biotipos y origen. Además, se estudió el efecto de concentraciones subinhibitorias de eritromicina sobre la adherencia de estas cepas. Como modelo experimental se utilizó trozos de tejido vesical de rata Sprague-Dawley que se sumergieron en una suspensión bacteriana de $2x10^8$ UFC/ml durante 60 min. Los trozos de vejiga se lavaron con agua estéril para eliminar las bacterias no adheridas y se ultrasonicaron para obtener las bacterias sésiles y realizar su recuento. Los recuentos de bacterias adheridas al tejido vesical fluctuaron entre $1.5x10^5$ y $5.9x10^6$ UFC/g de tejido húmedo. La incubación de cepas de los biotipos 8 y 9 en presencia de concentraciones subinhibitorias de eritromicina disminuyó la adherencia entre 64% y 93%, independientemente del biotipo ensayado. Se concluye que no hay diferencias significativas en el grado de adherencia al tejido vesical de rata entre los diferentes biotipos, y que ésta es disminuida por la acción de concentraciones subinhibitorias de eritromicina.
Financiado por Proyecto FONDECYT 1951044

Microbiología Ambiental

CAPACIDAD ANTAGONICA DE LA FLORA MICROBIANA SILVESTRE AISLADA EN LA COLUMNA DE AGUA Y SEDIMENTO DEL LAGO YELCHO.(Antagonic activity of the wild microorganism isolated from the water and sediment in the Yelcho lake)

S. Leiva, H.G. García-Quintana. Instituto de Microbiología. Universidad Austral de Chile. Casilla 167. Valdivia. *DID UACH E-96-05*

La flora microbiana de los sistemas marinos y dulceacuícolas de Chile es prácticamente desconocida. No obstante, su rol en la naturaleza es innegable tanto en aspectos positivos como negativos. Los lagos Nordpatagónicos de la X y XI Regiones de Chile se suponen oligotróficos y con una muy baja carga microbiana. A pesar de ello, la actividad humana que se intensifica día a día, comienza el proceso de contaminación microbiológica, aportando bacterias y hongos alóctonos. En este contexto quisimos averiguar, si la flora silvestre de estos cuerpos de agua tiene capacidad antagónica contra otros microorganismos, asegurando la autodepuración del lago. De numerosos aislamientos bacterianos y fúngicos de la columna de agua y del sedimento del Lago Yelcho, se eligieron 98 cepas que se identificaron como pertenecientes, entre otros a los géneros *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* y *Flexibacter*. Su actividad inhibitoria se ensayó contra *Enterobacteriaceae* aislados desde el lago y contra cepas clínicas bacterianas y fúngicas de referencia. Se determinó la actividad cualitativa según la técnica de Ericson & Sherris y la cuantitativa según lo descrito por García-Quintana *et al.*. Los resultados preliminares revelan que algunas cepas silvestres, tales como *Pseudomonas*, presentan actividad inhibitoria acentuada sobre Gram (-), en tanto que otras tienen actividad antifúngica.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE SUBSTANCIAS BACTERICIDAS PRODUCIDAS POR UN*Vibrio* MARINO. (Isolation and characterization of bactericidal subtances produced by a marine*Vibrio*)

C. Riquelme, Jorquera M, Muñoz L, Loyola L.
Casilla 170. Facultad de Recursos del Mar, Lab. Microbiología Marina, Universidad de Antofagasta.

Se estudió la cepa bacteriana C33 aislada del cultivo de *Argopecten purpuratus* con capacidad inhibitoria del patógeno *Vibrio anguillarum* (VAR). Extractos en acetato de etilo del filtrado del cultivo fuerón separadas por Cromatografía de Capa Fina (TLC). Tres compuestos con actividad bactericída fueron revelados mediante bioensayos en microplacas. Uno de estos compuestos (A2), presentó un mayor potencial antimicrobiano con una baja Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 4.7 mg/ml. El compuesto A2 fue purificado por cromatografía y sometido a análisis de espectroscopía IR y NMR1H, caracterizandose el compuesto A2 como un Hidroxi éter alifático. Este compuesto, además demostró ser bactericida en contra de los patógenos *V. parahaemolyticus* y *V. esplendidus*.

FINANCIAMIENTO: FONDECYT 1950-982 y 1970-595.

INCORPORACION DE VIBRIOS PRODUCTORES DE ANTIBACTERIANOS EN EL CULTIVO DE MICROALGAS UTILIZADAS COMO ALIMENTO EN ACUICULTURA.*(INCORPORATION OF VIBRIOS PRODUCING ANTIBIOTICS IN THE CULTURE OF MICROALGAE USED AS FOOD IN AQUACULTURE.)*

C. Riquelme, Araya R., Jorquera M., Avendaño R.

Una de las causas de las altas mortalidades larvales en el cultivo de *Argopecten purpuratus* son las infecciones del tipo bacterianas, destacando entre ellas el patógeno *Vibrio anguillarum* (VAR), el cual posee multirresistencia a los antibióticos utilizados comunmente en los criaderos de moluscos. En nuestro laboratorio se realizó un estudio para detectar en el cultivo larval de *A. purpuratus* bacterias antagonistas del patógeno *Vibrio anguillarum* (VAR). Detectándose 7 vibrios productores de inhibidores del crecimiento (VPI) del patógeno. En primer lugar se evaluó el crecimiento de estos VPI tanto en los productos extracelulares de *Isochrysis tahiti* como en el medio de cultivo de la microalga F/2 como control, mediante recuento de cultivables en agar marino Zobell 2216 y recuento directo total mediante microscopía de epifluorescencia con DAPI. Los resultados nos indican que 3 VPI poseen la capacidad de utilizar los productos extrcelulares de la microalga. Posteriormente con estos VPI se inició el estudio para determinar la factibilidad de utilizar microalgas como vector de estos vibrios. De esta forma se analizó el crecimiento de los VPI en la microalga, detectándose tres cepas de vibrios estimuladores del crecimiento de *Isochrysis tahiti* . La incorporación de los VPI despues de varios traspasos de el cultivo de la microalga fue monitoreado por inmunofluorescencia indirecta. Detectándose la prevalencia de los VPI en el cultivo microalgal. Lo anterior potencia la posibilidad de utilizar las microalgas como vectores de VPI.

FINANCIAMIENTO : FONDECYT 1970 595.

EFECTO DE QUEMAS CONTROLADAS SOBRE PROPIEDADES MICROBIOLOGICAS EN UN SUELO FORESTAL DE LA VII REGION. (Effect of prescribed burning on microbiological properties in a forest soil of VII Region, Chile).

Horacio Urzúa [1] y Carlos Ravanal [2].
[1]/ Facultad de Agronomía e Ingenieria Forestal, P.U.C. Avda. Vicuña Mackenna 4860. Santiago.
[2]/ Corporación Nacional Forestal (CONAF). Bulnes 285, Santiago.

Debido a que la microbiología forma parte integral del ecosistema edáfico, los microorganismos pueden alterarse por el fuego y por ésto, afectarse los procesos biológicos relacionados con la fertilidad del suelo y con la productividad del bosque. En un suelo forestal metamórfico del área de Constitución (VII Región) se determinó el efecto de 4 métodos de encendido de desechos de la vegetación nativa: quema intensa (frontal) moderadas (fajas y flanco), baja (retroceso) y sin quema (testigo) sobre propiedades microbiológicas, a los 480 y 570 días después de las quemas. Se determinaron: biomasa-N microbiana, recuento microbiano total, actividad respiratoria microbiana global, actividad mineralizadora de N («N_0»), constante de mineralización de N («k») y algunas características físico-químicas del suelo. Los resultados mostraron que el fuego afectaría principalmente a las fracciones más lábiles del sustrato orgánico, acelerando su agotamiento. El sustrato remanente no pareció afectarse por el fuego. A mayor intensidad de la quema ocurrió una reducción de la actividad mineralizadora de N medida como «No» y «k». El recuento microbiano total y la biomasa-N no fueron buenos indicadores de la actividad microbiológica. La actividad respiratoria global reflejó la labilidad de los sustratos a mineralizarse.

ESTUDIO COMPARATIVO DE COLIFORMES FECALES Y COLIFAGOS EN AGUAS SERVIDAS TRATADAS. (Comparative study of fecal coliforms and coliphages in treated sewage).

Juan Silva*, Verónica Vladillo*, Fernando Gahona*, .Juan Gezele*, Claudio Buzolic* y Gabriela Castillo**.
* Depto. de Tecnología Médica-INDES, Univ. de Antofagasta.
** Depto. de Ingeniería Civil, Universidad de Chile.

Se comparan los indices de coliformes fecales y el número de colifagos en muestras de aguas servidas tratadas en una Planta de Lodos Activados de Antofagasta. Los recuentos de colifagos se hicieron en placa, usando como cepa hospedera una cepa de *Escherichia coli* ATCC 13706 y los coliformes fecales, mediante la técnica del Número Más Probable (tubos múltiples). Los recuentos de ambos microorganismos decrece en forma similar en las distintas etapas del tratamiento. Se observaron escasas variaciones en la eliminación de ambos microorganismos a través del año, exceptuando en el 4 trimestre, período en que la planta estuvo en reparación y se encontraron valores superiores a 10^4 coliformes fecales x 100 ml. En la etapa final del tratamiento (cloración) las bacterias disminuyeron ostensiblemente a valores < 10^2 coliformes fecales x 100 ml, en cambio los colifagos alcanzaron a 10^4 UFP x l00 ml de agua. Estos resultados indican que estos dos microorganismos presentan difereneias de viabilidad frente al tratamiento y los colifagos presentan una mayor resistencia al cloro. La enumeración de colifagos es una técnica simple y fácil de realizar, por lo que se recomienda su uso como un procedirriento alternativo para controlar la eficiencia del tratamiento de las aguas servidas .

Financiamiento: proy. G-013, DINV-U. Antof. / FNDR 201000485-0.

ESTABILIDAD DE GRANULOS ANAEROBIOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES. (Anerobic granules stability in wastewater treatment)

David Jeison N., Rolando Chamy M., Daniel Alkalay*, Lorna Guerrero*
Escuela de Ingeniería Bioquímica Universidad Católica de Valparaíso
*Departamento Procesos Químicos Universidad Técnica Federico Santa María

En las últimas décadas los procesos basados en digestión anaerobia para el tratamiento de aguas residuales han experimentado un gran desarrollo. Clave de este éxito ha sido la utilización de lodo granular, el cual es el producto de un proceso de autoinmovilización. En este coexisten una serie de poblaciones microbianas, en asociación sintrófica, y se caracteriza por sus altas velocidades de sedimentación y por su elevada actividad metanogénica. Tales características han permitido el desarrollo de reactores de alta eficiencia, como los UASB y EGSB. Resulta de gran importancia entonces el identificar y analizar los factores que influyen en la estabilidad de los gránulos anaerobios, en la medida en que tal conocimiento permitirá contar con un sistema de tratamiento confiable. Variadas investigaciones realizadas en los últimos años han mostrado la influencia que el tipo de agua residual posee sobre la calidad y actividad del lodo granular. Asimismo, se ha observado que las condiciones hidrodinámicas existentes en el interior de los reactores puede generar variaciones considerables en las características del lodo. Este último punto reviste una importancia especial, en la medida en que los digestores anaerobios de última generación (EGSB) se caracterizan por trabajar a altas velocidades superficiales, con condiciones hidráulicas notoriamente diferentes a los reactores más tradicionales (UASB). En el presente trabajo se estudia el efecto que diferentes velocidades superficiales en el interior de los reactores poseen sobre los gránulos anaerobios. Para ello se instalaron y operaron dos reactores (un EGSB y un UASB), operando bajo condiciones similares, a excepción de la velocidad superficial del líquido. Además, se probaron 3 diferentes tipos de agua residual. Al cabo de varias semanas de operación se evaluaron las características del lodo contenido en cada reactor (actividad, tamaño, densidad, apariencia), las que se compararon con las que presentaba el inóculo, al comienzo de la experiencia.

EVALUACION DEL COMPORTAMIENTO INICIAL DE UN VERTEDERO PILOTO OPERADO CON RECIRCULACION DE LIXIVIADO TRATADO MEDIANTE DIGESTION ANAEROBIA (Assessmet of start up of an experimental landfill facility, with anaerobic treatment of the leachate recirculated)

Raul Espinace*, M. Cristina Schiappacasse, Juan Palma*, Rolando Chamy, Martina Reinke, Claudio Carrasco*.
Escuela de Ingeniería Bioquímica, *Escuela de Ingeniería en Construcción Universidad Católica de Valparaíso

Actualmente el sistema de disposición de los residuos sólidos urbanos (RSU) más utilizado a nivel nacional y mundial es a través de vertederos controlados, en los cuales se logra la estabilización de la materia orgánica en 30 años. Se ha observado que es posible disminuir el tiempo de estabilización y de asentamiento de los rellenos sanitarios por medio de la recirculación de sus lixiviados, previamente tratados en un digestor anaerobio. En este trabajo se evalúa el comportamiento inicial de un vertedero de 1 m^3 con recirculación de lixiviado tratado en un filtro anaerobio de 12 L. El vertedero fué rellenado con basura formulada en base a la composición típica que tienen los RSU de la ciudad de Valparaíso y Viña del Mar y compactada a una densidad de 0,5 Ton/m^3 operando a 25 ºC El filtro anaerobio se relleno con floocor y operó a 37ºC. Los resultados obtenidos en el vertedero indican que el lixiviado generado es de aproximadamente 2,5 litros, el cual contiene una concentración promedio en DQO de 65.000 mg/l, y su pH ha ido incrementando gradualmente de 5,3 a 5,7; no se ha detectado producción de biogas y se produjo el mayor asentamiento durante las dos primeras semanas de operación con un valor de 60 mm y continuó a una velocidad promedio de 6.7 mm/semana. El el filtro anaerobio se han lograron remociones del 98% de la materia orgánica que posee el lixiviado y alcanzado velocidades de carga orgánica de 8 kg DQO/m^3 día. De los resultados mostrados se puede concluir que debido a los bajos valores de pH obtenidos en el vertedero la actividad microbiologica está bastante deprimida siendo total para las bacterias metanogénicas. Por lo cual gran parte de la depuración de la materia orgánica se estaría llevando a cabo en el filtro anaerobio.

DETERMINACION EN AGUAS SERVIDAS DE BACTERIAS CULTIVABLES Y NO CULTIVABLES POR RECUENTO DIRECTO DE EPIFLUORESCENCIA *(DETECTION OF VIABLE BUT NONCULTURABLE BACTERIA IN WASTEWATER BY THE USE OF EPIFLUORESCENCE DIRECT COUNTING PROCEDURE)*

Dra.Mercedes Rojas S., Lic. Gabriel Quezada A., T.M.I.A. Alejandra Olea M. Ing. Sebastián Acevedo W. EMOS S.A., Planta Tratamiento Aguas Servidas Santiago Poniente.

En la microbiología de las aguas residuales, la diferencia entre el número de bacterias determinadas por el Método de Recuento Directo de Epifluorescencia y el de Recuento en Placa, fue demostrada en la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas Santiago Poniente, EMOS S.A. A pesar de que las diferencias pueden ser parcialmente atribuidas al agrupamiento de las células, organismos muertos y partículas no vivientes , es obvio que el recuento de células viables por placa, subestima el número real de bacterias viables presentes en las muestras de agua. Por otra parte, la dificultad de distinguir las células vivas de las muertas cuando se emplea el recuento directo de Epifluorescencia, puede resultar en una sobreestimación de las células viables presentes. La preincubación de muestras de aguas servidas tratadas, en presencia de pequeñas cantidades de extracto de levadura y ácido nalidíxico, mediante un período de seis horas en la oscuridad y a una temperatura de 25ºC, demostró el fenómeno de bacterias viables no cultivables de *Eschericia coli,* ya que bajo estas condiciones las bacterias viables no se dividieron pero crecieron como formas elongadas, pudiendo ser reconocidas fácilmente por el método directo de Epifluorescencia.

CARACTERIZACION MICROBIOLOGICA DE RESIDUOS INDUSTRIALES LIQUIDOS. (Microbiological characterization of industrial wastewaters).

Eric Espejo, Liliana Padilla*, David González* y María Angélica Mondaca. *Departamento de Investigación y Medio Ambiente, ESSBIO S.A., y Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C, Concepción.

Los residuos industriales líquidos (RILES) son efluentes líquidos que los establecimientos industriales descargan directamente a los sistemas de recolección de aguas servidas o a cursos de agua terrestres y marinos. La descarga de estos efluentes a los cuerpos de agua puede alterar la composición fisico-química y biológica de dichos sistemas. Existe escasa información en relación a la composición microbiológica de los RILES, por tal motivo se consideró de interés caracterizar microbiológicamente RILES de industria textil, química, procesadora de alimentos y de un establecimiento asistencial y comparar los resultados con los obtenidos para aguas servidas. Las muestras de RIL se tomaron a la salida de las descargas en envases estériles y se mantuvieron refrigeradas hasta el momento de su análisis. Se determinó: recuento total de bacterias, colimetría total y fecal, enterococos y colifagos. El recuento total de bacterias fue del orden de 10^5 ufc/ml y similar a los recuentos encontrados en aguas servidas. Las colimetrías totales fueron variables dependiendo del tipo de RIL en estudio, pero cabe destacar que para el RIL químico fue menor de 2 NMP/100 ml. Las colimetrías fecales variaron entre 10^3 y 10^7 NMP/100ml. La presencia de enterococo y colifagos fue positiva excepto para la muestra del RIL químico. Los resultados encontrados permiten concluir que la carga bacteriana aportada por los RILES y la contaminación fecal fue similar al registrado para aguas servidas.

Financiado por ESSBIO, S.A.

BIOREMOCION DE CADMIO POR UNA CEPA DE *Pseudomonas sp.* (Bioremediation of cadmium by *Pseudomonas sp.*).

María Balocchi, Carolina Yañez y María Angélica Mondaca. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Casilla 152-C, Concepción.

Una propiedad importante de los metales es que no son biodegradables y en consecuencia son acumulados por los organismos vivos, ejerciendo acciones tóxicas progresivas. Las comunidades microbianas presentes en sistemas acuáticos contaminados con metales pesados son afectadas por este ambiente adverso. Los procesos utilizados por los microorganismos para sobrevivir en presencia de metales son múltiples y gracias a esta inmensa capacidad metabólica se están utilizando bacterias para remover metales desde efluentes líquidos. El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de remoción de cadmio por *Pseudomonas sp.*, resistente al metal. La cepa bacteriana fue aislada de una muestra de agua del río Bío-Bío (VIII Región). Se creció en medio nutritivo en ausencia y presencia de cadmio (0.1 mg/L) y cada ciertos períodos de tiempo se determinó el Cd remanente en el medio por espectrofotometría de absorción atómica, el crecimiento bacteriano midiendo la absorción a 540 nm y el pH del medio de cultivo. Se realizaron observaciones por microscopía electrónica de transmisión. Los resultados demostraron que a medida que aumenta el crecimiento bacteriano, disminuye la concentración de Cd. Después de 72 h de cultivo, el Cd disminuyó en aproximadamente un 50% de la concentración inicial. Las observaciones por microscopía electrónica de las células bacterianas crecidas con Cd demostraron la presencia de zonas opacas a los electrones a nivel de envoltura celular. De los resultados obtenidos se puede concluir que la capacidad de *Pseudomonas sp* de remover Cd ofrece una interesante aplicación potencial en procesos de biorremediación de efluentes contaminados con este metal.

CARACTERIZACION DE BACTERIAS FOTOTROFICAS ANOXIGENICAS AISLADAS DE AMBIENTES HIPERSALINOS. (Characterization the anoxygenic phototrophic bacteria isolated in hypersaline environments)

Valderrama I. *; Erazo, S.**; Prado, B.* y V. Campos*.
* Laboratorio de Microbiología Ambiental.Instituto de Biología.
** Instituto de Química. Universidad Católica de Valparaíso. Av. Brasil 2950.

Las bacterias fototróficas anoxigénicas representan un grupo de bacterias acuáticas, que son capaces de crecer bajo condiciones anaeróbicas sin la producción de oxígeno.Las características más comunes a las especies es ; la presencia de bacterioclorofila, pigmentos carotenoides, citocromos y quinonas . Su metabolismo fotosintético utiliza donadores de electrones externos como compuestos de azufre reducidos o compuestos orgánicos. Las bacterias fototróficas anoxigénicas comprenden esencialmente dos grupos diferentes, uno de ellos corresponde a las bacterias púrpuras del azufre, las cuales incluyen a las familias *Chromatiaceae* y *Ectothiorhodospiraceae* ; este grupo ha sido aislado en lugares como: lagos salados, salinas solares de diversos lugares en el mundo y lagos de soda como Wadi Natrum en Egipto y recientemente se han aislado de zonas hipersalinas como el Mar Muerto. El Salar de Atacama, ubicado en el seno de una cuenca cerrada localizado a 23º30'' latitud S, 68º15'' latitud W, presenta una superficie formada por evaporitas, rocas salinas y clásticos, donde destaca su núcleo central de 1400 Km^2 compuesto fundamentalmente de NaCl. Se realizaron muestreos del Salar en: la laguna de Tebenquiche, laguna de Cejar, laguna de Chaxa y zona poligonal . Los aislamientos se realizaron en los medios RM-7SL, medio de Raymond y Sistrom 1967 y medio de Imhoff, 1988 ; mediante la técnica de diluciones seriadas en agar en profundidad Pfennig 1965, modificado por Trüper en 1970 y la técnica en placa propuesta por Irgens 1983. Se seleccionarón 45 cepas, el espectro salino realizado en ecto medio mostro crecimiento entre 3% al 30% de NaCl .El rango de pH fue 7.5 a 9.0 siendo las formas predominantes bacterias espirales y bacilos curvados. Los pigmentos bacterioclorofila y carotenoides fueron analizados de acuerdo a las técnicas de Pfennig y Trüper 1981; Schmidt y Trüper 1971, con algunas modificaciones. Los pigmentos corresponden con los patrones de las cepas tipo. La información obtenida sobre crecimiento en medios específicos, morfología, espectro salino y pigmentos nos permite evidenciar la presencia de este grupo en el Salar de Atacama.
Proyecto financiado DGI UCV.Nº 122719 UCV.

EFECTOS DEL TRATAMIENTO DE LAS AGUAS SERVIDAS EN LA COMPOSICION DE ESPECIES Y RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS DE BACTERIAS COLIFORMES. (Effect or waste water treatment on the species composition and antibiotic resistance of coliform bacteria).

Juan Silva*, Verónica Vladillo*, Lorena Callejas*, Héctor López*, Janet Olmos* y Gabriela Castillo**.
* Depto. de Tecnologia Médica-INDES, Univ. de Antofagasta.
** Depto. de Ingeniería Civil, Universidad de Chile.

Las Plantas de Tratamientos de aguas servidas constituyen los principales receptores de microorganismos entéricos que presentan resistencia a los antibióticos. En este trabajo, se investigó el efecto del tratamiento de aguas servidas en la composición de especies y resistencia antibiótica de bacterias coliformes. En muestras de aguas recolectadas en la etapa inicial y final de la Planta de Lodos Activados de Antofagasta, se determinó el número de coliformes totales y resistentes en agar McConky con y sin antibióticos. El promedio de los recuentos de coliformes totales fue 10^5 UFC/ml y disminuyó a 10^2 UFC/ml, al final del tratamiento. Los recuentos de bacterias coliformes resistentes a los antibióticos fueron menores y decrecieron notablemente en la etapa final, encontrándose en un número mayor frente a ampicilina y estreptomicina. Se identificaron 8 especies de coliformes. En aguas sin tratar, *E. coli* constituyó el 68% del total de los coliformes y en aguas tratadas disminuyó a un 58%. En cambio, *Klebsiella sp* aumentaron de un 14.1% al 28.6%. Estos resultados señalan que algunas especies de bacterias coliformes son eliminadas mas lentamente que otras por efecto del tratamiento de las aguas servidas.
Financiamiento: Proyecto G-013, DINV-Univ. Antofagasta.

Micología

MICROHONGOS DE LA PATAGONIA CHILENA: ALGUNOS ASCOMYCETES COPROFILOS

(Microfungi of the Chilean Patagonia: Some Coprophilous Ascomycetes)

E. Piontelli, L. & María Angélica Grixolli, A.
Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina Cátedra de Micología, Casilla 92 V. Valparaíso.

Continuando los estudios sobre hongos coprófilos, en el período estival de 1997 se obtuvieron 21 muestras de excrementos de bovinos de la Patagonia chilena (Región de Aisén), en un área geográfica comprendida entre Villa Mañiguales, Puerto Aisén , Coihaique y el lago Elizalde (45-46º Lat. S y 72-73ºLong.O). Mediante la técnica de cultivo en cámara húmeda e incubándose a temperatura ambiente, se detectó la presencia de un total de 12 géneros y 27 especies de Ascomycetes. Los géneros con mayor cantidad de especies fueron: *Podospora* (7), *Ascobolus* (3) y *Coprotus* (3) y las especies dominantes: *Podospora argentinensis* (90,5%), *Ascobolus immersus* (85,7%), *P. miniglutinans* (71,4%) e *Iodophanus carneus* (62%). Once especies se consideraron frecuentes: *Podospora fimiseda* (47,6%), *Sporormiella minima* (42,9%), *S. intermedia* (33,3%), *Saccobolus depauperatus* (33,3%), *Coniochaeta leucoplaca* (23,9%), *Coprotus granuliformis* (23,9%). De las especies consideradas esporádicas, destacan por ser sus primeros aislamientos en Chile: *Arnium leporinum, Podospora conica, Pyxidiophora badiorostris, P. grovei, Thecoteus apiculatus* (similis), *T. pelletieri, Coprotus niveus y Ascobolus stictoideus.* Se compararon las dimensiones de las ascosporas de todas las cepas estudiadas con los datos registrados en la literatura en ambos hemisferios, comprobándose que algunas especies de *Podospora* (principalmente), *Ascobolus y Thecoteus*, presentan ecotipos que difieren levemente (largo y ancho) de los datos registrados en la literatura.

ESTUDIO TAXONOMICO Y ENZIMATICO CUALITATIVO DE *DEUTEROMYCETE7S* Y *ZIGOMYCETES* AISLADOS DE ASERRIN DE *Pinus radiata* DEPOSITADO A LA INTEMPERIE EN EL ASERRADERO VISTA ALEGRE DE VALDIVIA (Taxonomic and qualitative enzimatic study of *Deuteromycetes* and *Zigomycetes* isolated of sawdust of *Pinus radiata* stored in natural conditions in the Aserrradero Vista Alegre de Valdivia)

EDUARDO VALENZUELA, SYLVIA BARRERA & SIGISFREDO GARNICA
Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 167. Valdivia. Chile.

Se realizó un estudio comparativo taxonómico y enzimático cualitativo de *Deuteromycetes* y *Zigomycetes* aislados por los métodos de las diluciones y lavado de partículas, a partir de aserrín de *Pinus radiata* depositado por uno y veinte años en condiciones naturales en el Aserradero Vista Alegre de Valdivia. Del aserrín depositado por un año se aisló un número mayor de géneros fúngicos (12) y de cepas (53), por el método de las diluciones. El menor número de cepas (13) se aisló del aserrín depositado por veinte años, por el método de lavado de partículas. Los *Penicillium* se aislaron con mayor frecuencia. También se aislaron los fitopatógenos *Cylindrocarpon destructans*, *Fusarium oxysporum* y *Pesotum sp.*. En la detección de actividad amilolitíca (12), proteolítica (10), celulolítica (23) y lignolítica (3) el número mayor de especies positivas se aisló del aserrín depositado por año. En todas las cepas, independiente del período de deposito del aserrín, se detectó actividad celulolítica. La actividad lignolítica se detectó en un número menor de cepas *Acremonium butiry*, *Sporotrichum sp.* y *Trichoderma harzianum* del aserrín depositado por un año; *F. oxysporum* y *T. harzianum* del aserrín depositado por veinte años. Se concluye que no existe una marcada diferencia en la actividad lignocelulolítica entre los hongos aislados independiente del período de deposito del aserrín, pero hay una mayor diversidad y abundancia de la flora fúngica aislada del aserrín de *P. radiata* depositado por un año.
Financiado por Proyecto S-96-03 DID-UACH.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION ENZIMATICA CUALITATIVA DE CEPAS MICELIALES OBTENIDAS DESDE BASIDIOCARPOS DE *Agaricales* DE MADERA. (Isolation and qualitative enzymatic characterization of mycelial strains obtained from basidiocarps of inhabiting-wood *Agaricales).*

EDUARDO VALENZUELA & SIGISFREDO GARNICA
Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

Se reporta el aislamiento y la caracterización enzimática cualitativa de cepas miceliales de 26 especies de *Agaricales* pertenecientes a las familias *Agaricaceae*, *Bolbitaceae*, *Coprinaceae*, *Cortinariaceae*, *Crepidotaceae*, *Pluteaceae*, *Strophariaceae* y *Tricholomataceae* que fructifican sobre diferentes sustratos lignocelulósicos de bosques y praderas del centro-sur de Chile. Las cepas miceliales fueron obtenidas en cultivo puro desde el plecténquima de los basidiocarpos. Los aislamientos se realizaron en AEM adicionado de antibiótico y se incubaron a 25ºC hasta el desarrollo de micelio. La detección cualitativa de enzimas se evaluó a los 14 días de cultivo. La detección de las enzimas citocromo oxidasa, esterasa, fosfatasa, lacasa y tirosinasa fue ejecutada agregando gotas de reactivos sobre los micelios desarrollados en AEM al 2%. Mientras que las enzimas amilolíticas, celulolíticas, lipolíticas, oxidasa extracelular, pectinóliticas, proteolíticas y ureasa fueron detectadas sembrando los micelios en medios indicadores o selectivos. Todas las cepas miceliales resultaron positivas para las enzimas citocromo oxidasa, esterasa, fosfatasa, lacasa y peroxidasa. De las 30 cepas miceliales el 66.6% resultó amilolíticas (+), 90% celulolíticas (+), 83.3% DNAsa (+), 63.3% lipolíticas y proteolíticas (+), 76.6% oxidasa extracelular (+), 16.6% tirosinasa (+) y 56.6% ureasa (+). Se detectó una marcada presencia de enzimas de interés lignocelulolítico.
Financiado por Proyecto FONDECYT 1970707

***Penicillium restrictum*: UN ANTAGONISTA DE PATÓGENOS VEGETALES** (*P. restrictum:* An antagonist of plant pathogens)

M. Espinoza, M. Zaldívar, L. M. Pérez. Depto de Bioquímica y Biología Molecular, Fac. de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile. Casilla 233 Santiago-1

El concepto de «control biológico» aparecido hace algunos años ha cobrado gran fuerza en el último tiempo como una alternativa al control de plagas en cultivos vegetales. Se han descrito numerosos microorganismos antagonistas de fitopatógenos, pero es importante seguir en la búsqueda de nuevas especies que sean efectivos en el control de determinados patógenos; así también, es necesario conocer los mecanismos por los cuales se produce tal antagonismo. Previamente se aisló un hongo de suelo, que se designó como 3IA; esta cepa fue identificada y clasificada por sus características morfológicas en cuatro medios de cultivo distintos (agar extracto de malta, agar papa dextrosa, agar Sabouraud y agar Czapek) como *Penicillium restrictum.* Se estudió el efecto de este hongo sobre los patógenos *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum* mediante experimentos *in vitro,* en los cuales *P. restrictum* mostró producción de metabolitos volátiles y difusibles (antibióticos), antagonizando a los dos primeros patógenos en forma muy marcada, y en menor grado a *F. oxysporum*. Se estudió también la capacidad de la cepa antagonista de excretar enzimas degradativas de componentes de pared de patógenos: quitinasas, β-1,3-glucanasas, proteasas. No se detectó actividad quitinasa (exo o endo) ni tampoco actividad β-1,3-glucanasa, sin embargo, sí fue posible detectar actividad proteasa. Esta actividad estuvo también presente al crecer el hongo en presencia del inhibidor de seril proteasas PMSF, lo que indicaría que *P. restrictum* excreta más de un tipo de proteasa. Es posible que la presencia de proteasas impidan la detección de quitinasas y glucanasas, ya que éstas serían degradadas. El uso de otros inhibidores de proteasas, tanto en el medio de cultivo del antagonista como en el ensayo de sus actividades enzimáticas, permitirán probar esta hipótesis.

Financiado por FONDECYT Nº 1940441 y FONDECYT Nº 1970532.

ENZIMAS HIDROLITICAS Y ANTIBIOTICOS EN EL ANTAGONISMO DE *Trichoderma* spp. CONTRA PATOGENOS VEGETALES. (Hydrolytic enzymes and antibiotics in the antagonism of *Trichoderma* spp. against phytopathogens)

J.C. Velásquez, M. Zaldívar, L.M. Pérez. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceúticas, Universidad de Chile. Casilla 233 Santiago-1

Una alternativa para el control de fitopatógenos, es el uso de microorganismos antagonistas. Esta alternativa se basa en que ciertos microorganismos pueden excretar enzimas líticas de la pared celular de fitopatógenos, y/o antibióticos ya sean volátiles y/o difusibles, que inhiben el desarrollo de los patógenos. Se usaron como hongos antagonistas, dos cepas nativas de *Trichoderma harzianum*, dos de *T. aureoviride* y una mutante de *T. aureoviride*, las que se analizaron en experimentos *in vitro*, frente a los patógenos vegetales: *Alternaria alternata, Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum.* Se encontró que las cinco cepas de *Trichoderma* antagonizaron a los tres patógenos estudiados. Al analizar el mecanismo de antagonismo se pudo determinar que todas las cepas de *Trichoderma* produjeron metabolitos volátiles los que inhibieron el halo de crecimiento de *B. cinerea* y, en menor cuantía, el crecimiento de *A. alternata* y *F. oxysporum.* Cuando se analizó si las cepas de *Trichoderma* podían excretar metabolitos difusibles, se encontró que todas ellas los producían alterando el desarrollo de los patógenos. En este caso, más que reducir el halo de crecimiento, se reducía la densidad del micelio. Además se estableció que todas las cepas de *Trichoderma* eran capaces de producir quitinasas, β-1,3-glucanasas y proteasas extracelulares, importantes en la degradación de la pared de los hongos. Al comparar las actividades enzimáticas se encontró que las cepas de *T. aureoviride* excretaban actividades superiores de enzimas, destacándose entre ellas la cepa mutante. Además se estableció que el hongo *T. aureoviride* wt y su mutante, son las únicas que poseen actividad β-1,3-glucanasa en forma semiconstitutiva, convirtiéndolas en las cepas con mayores proyecciones para ser utilizadas contra los patógenos estudiados.

Financiado por FONDECYT Nº 19440441 y FONDECYT Nº 1970532.

VIABILIDAD DE DERMATOFITOS EN MUESTRAS CLINICAS ALMACENADAS (Viability of dermatophytes in stored clinical samples)

Ximena Bustamante y **Luis Zaror**
Instituto de Microbiología Clínica y Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. E-mail: lzaror@valdivia.uac.uch.cl

Algunos autores han postulado la sobrevida de dermatofitos en muestras clínicas almacenadas por períodos entre 6 y 72 meses. Se estudiaron 257 muestras clínicas almacenadas entre Octubre de 1989 y Diciembre de 1994 (206 muestras de uñas, 43 de piel y 8 de pelo). Se realizó examen microscópico directo con KOH-tinta y posterior cultivo en Agar Sabouraud-dextrosado-CAF y agar Lacrimel por 10-15 días a 28ºC. Como controles se analizaron con igual metodología, 33 muestras obtenidas entre Enero y Noviembre de 1996, con un mínimo de 5 meses de almacenamiento. En las muestras colectadas entre 1989 y 1994 se observó hongos al examen microscópico directo en 91,5% de los casos. Sin embargo, no se reaislaron los hongos originales para cada muestra. En el caso de las células levaduriformes, el examen microscópico directo fue positivo en un 27,2% y no se reaislaron en los cultivos. En las muestras colectadas en 1996 se observó en un 100% de ellas, aislándose en un 24% de los cultivos. En muestras con células levaduriformes, se observaron en un 75% de ellas al examen microscópico directo y no se registró en los cultivos positivos. Las especies más reaisladas fueron *T. rubrum* (15,2%), *M. canis* (3,0%) y *A. candidus* (3,0%). Nuestros hallazgos son concordantes con los descritos por Dvorak y Hubalek, lo cual tiene valor epidemiológico y en el transporte de las muestras.

ONICOMICOSIS EN DIABETICOS (Onicomycoses in diabetic patients)

L. Zaror[1], A. Levicán[1], B. López[2] y G. González[2]
[1]Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile
[2]Unidad de Endocrinología, Hospital Base de Valdivia.

Los pacientes diabéticos presentan según algunos autores, una mayor predisposición para desarrollar micosis de las uñas. Se estudiaron 162 muestras de uñas, siendo 61 de mano y 101 de pie, correspondientes a 54 hombres y 108 a mujeres. Las muestras fueron colectadas según los procedimientos habituales, de acuerdo al tipo de onicomicosis. y fueron observadas al examen microscópico directo con KOH-tinta y sembradas en agar Sabouraud-dextrosado-CAF y agar Lactrimel e incubadas a 28ºC por 15 días. Los hongos aislados fueron identificados por las claves de Rebell y Taplin, Kreeger van Rij y de Hoog y Guarro. De las 162 muestras en 47 se observó hongos al examen microscópico directo, resultando 32 cultivos positivos. Los hongos más aislados fueron *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum* y *Candida guillermondii*.. Entre los hongos filamentosos oportunistas se aisló *Aspergillus candidus*. Llama la atención un aislamiento de *M. canis,* hongo que raramente produce onicomicosis.

HIGIENE EN HONGOS COMESTIBLES DESHIDRATADOS *Suillus luteus* EN SECADOR PILOTO. (Hygiene of edible dehydrated fungi *Suillus luteus* in small drier).

González S., **Gebauer M.T.**, Lillo K. y Rioseco M.F. Universidad de Los Lagos, Casilla 933, Osorno, Chile.

Se investigó un proceso de deshidratación de hongos *Suillus luteus* utilizando un secador piloto con circulación de aire en contracorriente a una velocidad de 0,53 m/seg y temperatura de 70ºC, en un tiempo de 8 horas a una carga de 5 kg/m^2. Se investigó la calidad higiénica del producto final y se comparó con hongos desecados de la misma especie existentes en el mercado tanto de procedencia artesanal como industrial. Se cuantificaron las bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes totales , mohos y levaduras, de acuerdo a la A.O.A.C. Se determinó que los hongos expendidos en el mercado presentan un promedio <150 colonias/gramo y <10 coliformes/gramo, comparado con los hongos obtenidos en el proceso desarrollado, que presenta un promedio <15 colonias /gramo y < 10 coliformes /gramo. El bajo índice de contaminación se debe a que el secador funciona a condiciones constantes, lo cual lo diferencia de los métodos artesanales, condicionados a factores extrínsecos. Además, se hicieron pruebas con un aditivo químico (bisulfito de sodio), el cual no fue determinante en el contenido microbiano. Sin embargo, este aditivo favorece la presentación del producto en cuanto a la conservación de su color típico. Para optimizar el proceso se recomienda capacitar a los recolectores y manipuladores en higiene y manipulación de la materia prima, con lo cual se podrá lograr ausencia de microorganismos coliformes en el producto final.

Fuente de financiamiento: Depto. Alimentos y Recursos Forestales.

FLORA FUNGOSA ASOCIADA A QUISTES Y HUEVOS DE *Heterodera trifolii* Goffart. (Fungi associated to cyst and eggs of *Heterodera trifolii* Goffart.)

Maribel Parada (1), Laura Bohm (2), Eduardo Valenzuela (3)
(1) Candidata a Magister en Protección Vegetal, Instituto de Prod. y Sanidad Vegetal, Fac.de Cs. Agrarias, UACh.;
(2) Instituto de Prod. y Sanidad Vegetal, Fac. de Cs. Agrarias, UACh.;
(3) Instituto de Microbiología, Fac.de Ciencias. UACh.

En estudios realizados en la Universidad Austral de Valdivia, se ha observado que existen variaciones de tamaño de las poblaciones de nemátodos presentes en praderas del sur de Chile. De acuerdo a lo anterior se ha planteado una investigación que tiene por objetivo conocer la flora fungosa asociada a quistes y huevos de *Heterodera trifolii*, en poblaciones de éste nemátodo, obtenidas de 4 praderas de la X Región del país. Se obtuvieron los quistes del nemátodo a partir de muestras de suelo por medio del sistema Fenwick; estos quistes fueron observados con ayuda de una lupa, rompiendo cada uno de éstos para obtener su contenido de huevos; ésto permitió la observación y separación de los huevos en base a caracteres como forma y color. Los huevos con formas y/o color diferentes a las características normales, fueron sembrados, al igual que la cutícula de los quistes que los contenían, en medio de cultivo Agar Extracto de Malta al 2% con sulfato de estreptomicina de 100 ug/ml. Los resultados preliminares indican la presencia de gran número de hongos del suelo del tipo Deuteromycetes, de micelios estériles entre los cuales se encuentran especies de la clase Basidiomycetes y en menor proporción hongos del tipo Ficomycetes. Es importante resaltar que algunas especies de hongos fueron encontrados tanto en la cutícula de los quistes como en los huevos presentes en el interior de ellos, estos hongos serán sometidos a Pruebas de Patogenicidad.

Este trabajo es financiado por el Proyecto FONDECYT 1961041.

Virología

ESTRATEGIAS DE CLONAMIENTO DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA (IPNV). (Alternative strategies for "in vitro" IPNV cloning).

Patricio Araneda H. y Sergio Marshall G. Lab. Genética Molecular. Instituto de Biología. Universidad Católica de Valparaíso.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa prototipo de la familia *Birnaviridae*, contiene un genoma bicatenario de RNA y es responsable de grandes tasas de mortalidad en cultivos de peces salmonídeos, lo que representa un desafío desde un punto de vista científico como también comercial. La posibilidad de clonar y subclonar proteínas de la cápside desde el genoma viral permitiría expresar diferentes epítopes proteícos en peces injectados con un vector (vehículo) de expresión que contenga el cDNA correspondiente, por lo tanto dichos polipéptidos representan inmunógenos de diversa calidad y eficiencia. Las estrategias de clonamiento que se presentan van desde el diseño de primers dirigidos a diversas proteínas de la cápside viral, hasta el aislamiento de polisomas virales desde monocapas de células CHSE 214 infectadas con el virus. Este trabajo muestra evidencia experimental tanto de los métodos de obtención de templados genómicos virales para los procedimientos de clonamiento, como también la existencia de clones (cDNAs), con los tamaños esperados según los primers dirigidos que se hallan utilizado en cada reacción.

Proyecto CI 1 - CT 94 - 0110 (DG 12 HSMV), Comunidad Económica Europea.

IMPLEMENTACION DE UNA TECNICA RAPIDA DE AISLAMIENTO DE ADENOVIRUS (Rapid isolation technique for adenovirus diagnosis)

Vera G, Jeraldo C, Lay M, Avendaño LF.
Depto. Microbiología y Virología. Fac. Medicina U. de Chile Casilla 9183. Correo Central. Santiago. Chile

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) por adenovirus (AD) pueden ser muy severas, con daño pulmonar e incluso muerte, y se han descrito brotes nosocomiales. Como la inmunofluorescencia (IF) es de baja sensibilidad comparada con el aislamiento, se necesita desarrollar un diagnóstico rápido por cultivo. La centrifugación durante la adsorción de la muestra y la cosecha precoz a los 2 días podría satisfacer esta aspiración. **Métodos**. Con el objeto de optimizar el aislamiento en cultivo celular se estudiaron 124 muestras provenientes de lactantes hospitalizados por IRA, entre junio y agosto de 1996. Se inocularon en duplicado en HEp-2 y el efecto citopático se confirmó por IF. Se hicieron cuatro grupos: con/sin centrifugación (1500 rpm x 45 min. con rotor de ángulo fijo), y con cosecha e IF a los 2 y 7 ds. **Resultados.** A los 2 ds se detectaron 24 y 25 AD+ en los grupos con y sin centrifugación; a los 7 se obtuvieron 41 y 48 AD+ respectivamente. Se concluye que la cosecha precoz logra diagnosticar el 52% de los Ad + y que la centrifugación mejora la sensibilidad del cultivo a los 7 ds. **Conclusiones.** Si bien las diferencias no son estadísticamente significativas, ambas modificaciones propuestas no representan mayor complejidad del método y permiten un avance en el manejo de las infecciones respiratorias por Ad.
Proyecto FONDECYT 194 0527

MIRISTILACION DE PROTEINAS EN EL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA (IPNV). (Protein myristilation in the infectious pancreatic necrosis virus).

Eugenio Vargas, Emma Navarrete, Maritza Soler y Juan Kumar .
Departamento de Qca y Bioquímica, ICBQ, Facultad de Ciencias y Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso .

La miristilación de proteínas es un proceso post-traduccional que ocurre en el metabolismo celular de diversos organismos. Está descrito en la levadura *S. Cerevisae*, donde sucede por mediación de la enzima miristoil CoA transferasa. Asimismo se ha encontrado miristilación de proteínas en virus sin membrana externa . Por ejemplo, en el virus polio, la proteína VP4 se encuentra miristilada en la partícula madura. A esta modifcación post-traduccional se le atribuyen funciones en el ensamblaje y posiblemente en la penetración a la célula huésped. El virus IPN penetra a la célula hospedadora a través de receptores específicos que facilitan su endocitosis. Dado que, al igual que el virus polio, el virus IPN no posee una membrana lipídica externa es que una posible miristilación podría facilitar su escape al citosol gracias a un aumento de la hidrofobicidad de su cápsida. En esta comunicación presentamos experimentos basados en el uso de ácido mirístico tritiado para averiguar si esta molécula se incorpora covalentemente a las proteínas del virus . Para la detección de las proteínas virales realizamos PAGE, fluorografia y cuantificación de trozos de gel por centelleo líquido . Como control positivo utilizamos virus polio (virus de la vacuna poliomielítica oral). Los resultados obtenidos indican incorporación de la radioactividad a la proteína VP4 del virus polio, sin embargo no se detectó ninguna incorporación en las proteínas del virus IPN.
Proyecto DIUV 14/94.

INMUNOLOCALIZACION DIFERENCIAL DE LAS PROTEINAS ESTRUCTURALES DEL VIRUS IPN (Differential immunolocation of the structural proteins of IPN virus)

Juan C. Espinoza y Juan Kuznar. Laboratorio de Bioquímica y Virología, Inst. Ciencias Biológicas y Químicas, Fac. de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

El ensamblaje de los virus implica un complejo conjunto ordenado de interacciones bioquímicas que conducen finalmente a la formación de una partícula madura. Parte importante del proceso está establecido en la capacidad de las proteínas estructurales para auto organizarse en complejas estructuras multiméricas que unen el ácido nucleico viral. Sin embargo, cada vez se obtienen más antecedentes del importante rol que desempeñan moléculas y estructuras celulares en la morfogénesis viral. El virus IPN, por su estructura relativamente simple, es un buen modelo para explorar este tipo de procesos. Consta de dos moléculas de RNA bicatenario y, mayoritariamente, de dos proteínas estructurales, Vp2 y Vp3/4. Es por esto que estamos iniciando estudios para analizar la morfogénesis del virus considerando su entorno inmediato, la célula infectada. La idea básica es la de estudiar, a través de apropiadas sondas fluorescentes, la localización de las principales moléculas virales durante el ciclo infectivo. En esta comunicación se presentan resultados de experimentos de inmunolocalización de dos proteínas estructurales del virus con anticuerpos monoclonales (Am). Para ello se conjugó un Am directamente con TRITC y otro se detectó a través de un anticuerpo secundario conjugado con FITC. La marcación de las proteínas virales se realizó en células CHSE-214 a las diez horas post infección, esto es, coincidentemente con la máxima velocidad de síntesis de RNA viral. En estas condiciones observamos que la distribución de la fluorescencia es claramente diferente dependiendo del tipo de proteína marcada. La distinta compartamentalización de las proteínas virales se aprecia también usando ambos anticuerpos simultáneamente. Estos resultados permiten hipotetizar que la localización diferencial de las proteínas virales puede contribuir a la eficiencia del ensamblaje de las proteínas del virus IPN.

Financiamiento: Proy DIUV Nº 12 / 95.

DETECCION DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA (IPNV) MEDIANTE ENSAYO DE INMUNOFLUORESCENCIA CON ANTICUERPOS MONOCLONALES (Detection of IPN virus using an immunofluorescence assay with monoclonal antibodies)

Claudia Puelle, Juan C. Espinoza y Juan Kuznar. Laboratorio de Bioquímica y Virología, Inst. Ciencias Biológicas y Químicas, Fac. de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

El IPNV es un importante patógeno de salmonídeos capaz de producir una alta mortandad en peces juveniles. Desde hace más de diez años que se conoce que el virus existe en nuestro país por lo tanto es un factor de riesgo para la industria de la salmonicultura. Con el objeto de facilitar su diagnóstico es que estamos ensayando la utilidad de anticuerpos monoclonales preparados contra el virus aislado en Chile en la detección de los antígenos virales. En este contexto es que estamos desarrollando métodos de inmunofluorescencia, ELISA e inmunodot. En esta comunicación presentamos el método de inmunofluorescencia. El esquema básico consiste en el material a ensayar, en este caso una monocapa de células CHSE-214 adheridas a un vidrio circular e infectadas con la muestra problema, se fija con metanol, se incuba con el anticuerpo monoclonal y posteriormente con anticuerpos anti ratón conjugado con FITC. Finalmente, las monocapas se examinan en un microscopio de fluorescencia. Para simular condiciones en que las muestras sospechosas contienen poco virus, inoculamos cultivos celulares con multiplicidades de infección de 0,001 y 0,0001 UFP/cel. En el primer caso al cabo de 24 h detectamos fluorescencia positiva y en el segundo al cabo 36 h. En ambas situaciones se visualizó la fluorescencia bastante antes que el efecto citopático característico de células infectadas con el virus IPN. Con el objeto de validar estos resultados con animales infectados se inocularon truchas con el virus y se prepararon extractos para aplicarlos a las monocapas de células. Al analizar extractos de peces que presentaban la sintomatología de la enfermedad se observó que en menos de un día se apreciaba claramente la aparición de células intensamente fluorescentes.

Financiamiento: Proy FONDECYT 1950 395

CARACTERIZACION MORFOLOGICA Y MOLECULAR DE UN MICOVIRUS DE *Botrytis cinerea* (Morphologic and molecular characterization of a mycovirus from Botrytis cinerea).

Castillo A., Vilches S. Obreque J. y Castro M. Depto Cs. Biológicas, Fac. Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Casilla 40, Correo 33, Santiago. E-mail: acastill@lauca.usach.cl

Los micovirus o partículas tipo virus (VLPs) son elementos intracelulares que se han detectado tanto en levaduras como en hongos filamentosos. La mayoría de ellos son partículas ribonucleoproteicas intracitoplasmáticas cuyo genoma, generalmente de RNA de doble hebra (dsRNA), se encuentra encapsidado en un cubierta proteica icosaédrica o esférica. En muchos hospedadores los micovirus son latentes o crípticos, ya que los hongos infectados no presentan síntomas. Sin embargo, en algunos casos descritos existe un claro fenotipo asociado a la presencia de un micovirus. Estos incluyen el fenotipo *killer* en *Saccharomyces cerevisiae*, *Ustilago maydis*, *Hanseniaspora uvarum* y *Zigosaccharomyces bailii* y la hipovirulencia en *Cryphonectria parasitica*.. En *Botrytis cinerea* CVg25, hemos detectado la presencia de tres moléculas de dsRNA, denominadas L, M_1 y M_2 cuyos tamaños aproximados son 8.3, 2.0 y 1.4 kilopares de bases (kpb) respectivamente. La visualización por microscopía electrónica de secciones ultrafinas de micelio de este hongo, nos permitió detectar la presencia de VLPs isométricas de aproximadamente 40 nm de diámetro. Tales partículas se localizan en el citoplasma como VLPs aisladas o formando pequeños agregados dentro de estructuras citoplasmáticas membranosas. No se observaron partículas intranucleares, pero se detectaron grupos de VLPs cercanos a la membrana nuclear. Tampoco fue posible encontrar partículas intramitocondriales ni dentro de cuerpos lipídicos. La purificación de las VLPs por centrifugación en gradientes de sacarosa, nos permitió determinar que sólo el L-dsRNA se encuentra asociado a ellas, indicando que *B. cinerea* CVg25 posee un micovirus con un genoma de dsRNA no segmentado.

Financiado por FONDECYT 1961233 y DICYT-USACH

APLICACION DE LA ANTIGENEMIA EN EL DIAGNOSTICO DE INFECCION/ENFERMEDAD POR CITOMEGALOVIRUS (CMV). (CMV antigenemia as diagnosis of infection/disease)

Luchsinger V, Suárez M, Thompson L.
Microbiología, Fac.de Medicina, U. de Chile. Independencia 1027, Santiago.

El CMV es uno de los principales agentes de morbimortalidad en los inmunocomprometidos. Existen diversos métodos para el diagnóstico de infección/enfermedad por CMV; la técnica de antigenemia es cuantitativa y ayudaría a definir una enfermedad por CMV. **Objetivo:** conocer la utilidad de esta técnica en el diagnóstico de enfermedad por CMV. **Método:** en 163 muestras de sangre se realizó antigenemia (detección de la proteína pp65 en neutrófilos de sangre periférica mediante inmunofluorescencia), con anticuerpos monoclonales comerciales (Dako®). **Resultados:** 26 muestras fueron positivas (16%), con una mediana de 4,5 núcleos positivos/400.000 células observadas y con un rango de 1 a 243 núcleos positivos. Estas muestras provenían de 96 pacientes: 21 niños y 54 adultos; 30 infectados con HIV, 28 transplantados, 6 con infección congénita, 14 con otros diagnósticos y 18 sin antecedentes. De 45 pacientes sintomáticos, la antigenemia fue (+) en 19 (42%): síndrome febril (10), hepatitis (3), neumopatía (3) y otros (3). Los 26 pacientes sintomáticos con antigenemia (-) correspondieron a: infección congénita (4), HIV (16) y trasplantados (6). De los 25 pacientes asintomáticos, 3 fueron antigenemia (+), con recuentos £ 4 núcleos/400.000 células. De las 118 muestras analizadas simultáneamente por antigenemia y aislamiento viral, en ninguna se aisló CMV y 18 fueron positivas por antigenemia. **Conclusión:** la antigenemia identificó un mayor número de pacientes infectados por CMV que el aislamiento viral y la mayoría de ellos presentaba sintomatología. Es necesario disponer de este método diagnóstico para el manejo de pacientes inmunocomprometidos.

Financiado parcialmente por proyecto O.C.I.C.1996 Hospital Clínico U. de Chile.

SELECTIVIDAD CELULAR EN LA TRANSFORMACION DE LOS VIRUS PAPILOMA HUMANOS (HPV) TIPOS 16 Y 18. (Cell selectivity of types 16 and 18 in human papillomavirus transformation).

Ojeda JM, Fernández J, Valdivieso F y Molina R.
Depto Microbiología y Virología y Centro de Medicina Reproductiva del Adolescente.Facultad de Medicina. U de Chile

Introducción. Los virus papiloma humanos (HPV) tipos 16 y 18 poseen potencial oncogénico y se han asociado al cáncer cérvico uterino. Se desconoce la suceptibilidad celular de la infección viral in vitro. Se ha demostrado la presencia de genomas de HPV-16 y 18 en tumores de cuello uterino, siendo más frecuente el genotipo 16. **Objetivos**. Determinar presencia de genotipo viral transformante de HPV 16 o 18 y ciertas características de la transformación celular en las líneas derivadas de cuello uterino HeLa, Casky y SiHa. **Metódica**. Se detectó genotipo de HPV con técnica de hibridación in situ y PCR. El origen histiotípico de las línea celulares se estableció usando anticuerpos monoclonales anti citokeratinas en ensayos inmunocitoquímicos; el comportamiento tumoral in vitro se definió por cocultivos con fibroblastos IMR. Los ensayos se apoyaron con análisis de imágenes computacionales. **Resultados.** Las líneas celulares Casky y SiHa presentaron genomas de HPV-16, mientras que en HeLa se detectó el tipo 18. Los ensayos inmunocitoquímicos mostraron positividad para citoqueratinas 8 y 14 en células Casky y SiHa, y 8,18 y 19 en células Hela. El cocultivo de células HeLa con fibroblastos humanos IMR resultó en un crecimiento de tipo adenoidal. **Conclusiones**. La diferencia en el genotipo transformante y tipo de citokeratinas muestra selectividad celular en la transformación por HPV. Los cocultivos de células HeLa y fibroblastos IMR, el perfil de citokeratinas y los antecedentes epidemiológicos indican que HPV-18 tranformaría células del endocervix y originaría adenocarcinomas de cuello uterino, mientras que HPV-16 que transformaría células del ectocervix, originando carcinomas.
FONDECYT 1931052

Microbiología de Alimentos

APLICACION DE LA TECNICA DE SEPARACION INMUNOMAGNETICA AL AISLAMIENTO DE *Salmonella spp*. DE HARINA DE PESCADO. (Inmunomagnetic separation technic applied to the isolation of *Salmonella spp*. from fish meal).

Gesche Erika y Alberto Schlicht
Universidad Austral de Chile. Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria. Casilla: 567. Valdivia-Chile.

Como aporte al conocimiento de eficiencia de técnicas de aislamiento de *Salmonella spp*. en harina de pescado, se hizo una comparación de hallazgos positivos aplicando la técnica de separación inmunomagnética (IMS) recomendada por el laboratorio VICAM LP y la técnica tradicional (norma ISO 6579/90), recomendada por SERNAP. A partir de una muestra de harina de pescado informada como positiva a *Salmonella spp*. por la técnica tradicional, se hicieron 10 repeticiones de aislamientos aplicando simultáneamente ambas técnicas mencionadas, empleando en cada oportunidad 25 g de la muestra. La técnica de IMS básicamente contempló un enriquecimiento no selectivo durante 5 y 20 h, del cual se obtuvieron 2 ml que se mezclaron con 100 µl de una suspensión de perlas magnéticas recubiertas de anticuerpos anti-*Salmonella spp*., para lograr en el lapso de 1 hora de suave agitación a temperatura ambiente, un enriquecimiento selectivo. 200 µl de la suspensión anterior fueron vertidos sobre placas de agar selectivo para *Salmonella* y esparcidos con asa, para luego de 24 h de incubación a 37ºC hacer la confirmación bioquímica de las colonias sospechosas. Del total de 10 ensayos de repetibilidad, se obtuvieron aislamientos positivos a *Salmonella spp*. en 6 casos aplicando la técnica tradicional y en 8 casos al aplicar la técnica IMS. Si bien los resultados obtenidos reflejan un grado de repetibilidad de ambas técnicas, el hecho de no haber encontrado un 100% de concordancia se puede atribuir a heterogeneidad de distribución de Salmonella spp. en la harina de pescado.

HONGOS FILAMENTOSOS CONTAMINANTES DE SUPERFICIE DE DIFERENTES FRUTAS DESHIDRATADAS DE VENTA LIBRE EN SANTIAGO DE CHILE. (Surface contaminant filamentous moulds of different dehydrated fruits sold in different markets in Santiago de Chile).

MARCELA ALEXANDRE S.
Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
Laboratorio Ambiental, Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente.
VALERIA IBAÑEZ H.
Depto. de Microbiología Cs.Med.Norte Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
LUIS THOMPSON M.
Depto.de Microbiología Cs.Med.Norte Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Trabajo realizado en el Laboratorio de Microbiología, Cs.Med.Norte Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Sesenta y un muestras de frutas deshidratadas de diferentes marcas de venta libre en Santiago de Chile, fueron analizadas para determinar los hongos filamentosos contaminantes de superficie, con el objeto de tener una primera aproximación sobre el riesgo derivado de su consumo. De ,éstas, 36 corresponden a muestras envasadas y 25 a granel. Las técnicas de estudio se desarrollaron bajo procedimientos standard (7). 45 (73,8%) muestras presentaron desarrollo fúngico. Se identificó en total 11 géneros, siendo los más encontrados: *Aspergillus, Rhizopus, Penicillium* y *Mucor*. Géneros como *Aureobasidium, Chrysosporium, Paecilomyces, Epicoccum, Ulocladium, Scopulariopsis* y *Alternaria* también fueron descritos. Se discute el potencial riesgo de infección en pacientes inmunodeprimidos que consumen frutas deshidratadas.

MONITOREO MICROBIOLOGICO DE PRODUCTOS LACTEOS EN LA REGION METROPOLITANA ENTRE 1991 Y 1994. (Microbiological monitoring of dairy products in the Región Metropolitana, between 1991 and 1994).

Soledad Ronda*, Rafael Tamayo*, Arnoldo Campos ** y Arnoldo Estefó **
* Instituto de Medicina Preventiva, Universidad Austral de Chile, Valdivia.
** Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente.

Con el fin de determinar el grado de aptitud microbiológica de los productos lácteos controlados por el Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente, se analizaron 3675 registros de muestras (de 10 tipos de alimento) recolectadas de la Región Metropolitana, correspondientes al período 1991 a 1994. Los exámenes microbiológicos considerados para el estudio fueron: 1) Recuento Total de bacterias aerobias mesófilas viables; 2) Coliformes totales; 3) Coliformes fecales; 4) *Staphylococcus aureus*; 5) *Salmonella*; 6) *Clostridium perfringens*; 7) *Bacillus cereus*; 8) Levaduras y mohos. Los resultados se analizaron por computación utilizando el programa Epi Info versión 5.0 y se usó como referencia el Reglamento Sanitario de los Alimentos vigente en Chile. Los alimentos mayoritariamente controlados fueron: Leche en polvo (26%); queso madurado (14%) y leche pasteurizada (13,2%). Un 18,4% (676) de las muestras presentó algún tipo de contaminación microbiológica sobre los límites establecidos. Se observó un leve incremento en la no conformidad de los productos lácteos de un 17,9% en 1991 a 22,4% en 1994. Los grupos de alimentos mayoritariamente rechazados fueron: mantequilla (55,8%); queso madurado (54,8%) y quesillo (37,4%), siendo coliformes fecales y *S. aureus* las causas más frecuentes.

ESTABILIDAD MICROBIOLOGICA Y FISICO-ORGANOLEPTICA EN ESPECIES SALMONIDEAS SOMETIDAS A CONGELACION A -18ºC.(Microbiological and physical-organoleptic stability in salmonids species at -18ºC)

Gebauer, Mª Teresa; De la Fuente, L.; Báez, V.; Veloso, Mª.; Hernández, O. y Vásquez, V.
Universidad de Los Lagos, Casilla 933, Osorno, Chile.

Considerando el extraordinario crecimiento de la salmonicultura en Chile, especialmente en la X Región, y que el proceso de mayor aplicación a estas materias primas son las bajas temperaturas, es fundamental aportar al conocimiento técnico para así garantizar productos de calidad, por lo que este estudio plantea entregar información sobre la estabilidad microbiológica y físico-organoléptica de especies salmonídeas mantenidas a -18ºC durante un año. Para evaluar la disminución de la frescura en el salmón coho *Oncorhynchus kisutch*, trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* y salmón atlántico *Salmo salar*, se trabajó en muestra fresca y se realizó un seguimiento trimestral durante un año, tanto en análisis microbiológico a través de recuento total, detección de coliformes totales y *Escherichia coli* y análisis físico-organoléptico con mediciones de pH, textura, olor y drip. Respecto al desarrollo de microorganismos, se aprecia en coho una relación de 10^4 ufc/g estables en el tiempo, en cambio en el atlántico y trucha se aprecian niveles de hasta 10^6 ufc/g. Ocasionalmente, se observó presencia de coliformes totales y sólo en dos muestras se detectó presencia de *Escherichia coli*. Analizando los valores de pH, se observa que aumenta levemente a través del tiempo, alcanzando valores cercanos a 6.0 en todas las especies. Con respecto a la textura y el olor se aprecia disminución de calidad en al menos 2 grados tanto en coho como en atlántico; en trucha se detecta mayor olor, indicando un deterioro más evidente. El drip en las tres especies es menor al 3% al cabo de un año de almacenamiento, lo cual indica que el proceso de congelación fue adecuado pues no hay destrucción de células. Se concluye que en las tres especies salmonídeas no hubo aumento bacteriano importante, que el pH se mantiene a un nivel aceptable y que la textura y el olor son los parámetros que mayormente se ven afectados durante el lapso de un año a -18ºC.

Financiamiento: Dirección de Investigación y Postgrado de la Universidad de Los Lagos y Empresa Tecmar S.A.

DETECCION DE *Listeria monocytogenes* MEDIANTE METODOLOGIA SIMPLIFICADA.(Detection of *Listeria monocytogenes* by simplified methodology)

Arrieta A., Arteaga J, González L., Maureira M. y Bustamante C.
Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Dpto. de Ciencias Biológicas. Universidad de Santiago de Chile. Casilla 40. Correo 33. Santiago. E-mail : aarrieta@galois.usach.cl

Listeria monocytogenes es una bacteria de incidencia desconocida en nuestro medio que tiene repercusiones tanto en salud pública como en aspectos económicos, al exigirse nivel 0 en alimentos. Su detección es lenta y compleja de acuerdo a la metodología sugerida por el FDA.. En el presente trabajo se estudió la factibilidad de preparar envases con paletas plásticas que contenían los medios de cultivo ensayados : Oxford y Palcam. Esta modalidad de presentación tienen la triple finalidad de aplicación, transporte e incubación del ensayo. El propósito de este estudio fue simplificar las manipulaciones de análisis y a la vez determinar la sensibilidad del método usando medios de cultivo alternativos. Además, fueron evaluados el tiempo de contacto del medio con la suspensión bacteriana y la incidencia de la agitación en la exposición. El análisis de las muestras a las 24 horas de incubación muestran que al trabajar con 30 seg. de inmersión de la paleta (con agitación) en la muestra, es suficiente para retener colonias de *L.monocytogenes* .En el caso del agar Oxford se evidencian colonias nítidas y típicas de *L. monocytogenes* en cambio en el agar Palcam no se presenta crecimiento de esta bacteria. A las 48 horas se observan colonias en ambos medios de cultivo, siendo en agar Oxford el que presenta una mayor cantidad de colonias, aún cuando fueron expuestos ambos medios a la misma concentración bacteriana inicial.

Proyecto financiado por DICYT-USACH , BIOCH. y DILACO.

Microbiología Agrícola

ENCAPSULAMIENTO DE CEPAS DE *Rhizobium* EN MATRICES DE ALGINATO PARA LA PRODUCCION DE BIOINOCULANTES PARA LEGUMINOSAS FORRAJERAS. (Encapsulation of *Rhizobium* strains in alginate beads for the production of bioinoculants for forage legumes).

Oyarzún J, Ciampi L, Schöbitz R y Fuentes R. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia Chile

La simbiosis rhizobium-leguminosa, responsable de la fijación biológica de nitrógeno es de vital importancia en el aporte de este elemento al crecimiento de estos vegetales. Hoy en día, aprovechando esta relación han aparecido en el mercado varios tipos de inoculantes para leguminosas. Su efectividad depende en gran medida de la viabilidad celular que se logre obtener, por lo tanto es necesario contar con un método efectivo para la producción, transporte y almacenamiento de las bacterias que serán aplicadas al campo. El objetivo de este trabajo ha sido formular, analizar y estudiar las condiciones del encapsulamiento de cepas de *R. trifolii* en matrices de alginato para su utilización como bioinoculante. Las bacterias son cultivadas en caldo manitol por períodos específicos para cada cepa. Paralelamente, se prepara caldo manitol fresco, adicionando osmoprotectante, alginato e inerte. A esta mezcla se agrega el pellet celular procedente del cultivo bacteriano, y se hace pasar a través de una bomba peristáltica para que gotee sobre una solución de gluconato de calcio 0,1 M. Posteriormente, se dejan reposar las cápsulas y se secan bajo campana de flujo laminar durante 48h.

Para evaluar la evolución de las cepas de *Rhizobium*, se realizan recuentos celulares en cada una de las etapas del encapsulado y a diferentes tiempos de almacenamiento; para comprobar la efectividad del inoculante se realizan ensayos en maceta. Los excelentes recuentos obtenidos en cada una de las etapas de producción de las cápsulas y de los gránulos almacenados, indican que la formulación en alginato es una excelente alternativa a los inoculantes tradicionales.

Financiado por FONDECYT 1951105

ENCAPSULAMIENTO DE UNA CEPA MUTANTE DE *Bacillus spp.* PARA EL CONTROL BIOLOGICO DE *Botrytis cinerea.* (Encapsulation of a mutant strain of *Bacillus* spp. for the biological control of *Botrytis cinerea*).

Bernal, G., Ciampi, L., Oyarzún, J., Schöbitz, R. y Fuentes, R. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia Chile.

Estudios realizados con un mutante inducido de *Bacillus spp.*, demostraron su eficiente capacidad inhibitoria *«in vitro»*, frente al hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, responsable de la pudrición gris en frambueso. Sin embargo, estos éxitos logrados en el laboratorio son difíciles de reproducir en experiencias de campo, debido a la dificultad de almacenar, transportar y aplicar la cepa antagonista. El objetivo de este trabajo es formular un proceso de bioatrapamiento con la cepa mutante en una matriz de alginato y evaluar la viabilidad celular frente a las nuevas condiciones. El mutante es crecido en 500 ml de medio CPG (casaminoácido peptona glucosa) durante 48 h a 25 ºC. Paralelamente, se preparan 400 ml de medio CPG fresco y se agregan osmoprotectante, alginato de sodio e inerte. Finalmente ambos medios son mezclados, y con la ayuda de una bomba peristáltica, la mezcla es dejada escurrir sobre una solución de gluconato de calcio 1M, en donde se forman las esferas con la cepa mutante atrapada. Al cabo de 30 min son retiradas y dejadas secar 48 h dentro de una cámara de flujo laminar. Recuentos y pruebas de inhibición *«in vitro»* contra *Botrytis* fueron realizados utilizando las cápsulas secas, pudiendose observar que los recuentos celulares no variaron notoriamente durante el proceso, además se mantuvo la capacidad inhibitoria de la cepa mutante frente al hongo. Los resultados indican que el atrapamiento de la cepa mutante en una matriz de alginato, es una atractiva posibilidad para formular cepas antagonistas de *Botrytis cinerea.*

Financiado por FONDECYT 1951105

FORMULACION DE CELULAS DE UNA CEPA DE *Serratia liquefaciens* EN MATRICES DE ALGINATO DE SODIO PARA EL CONTROL BIOLOGICO DE *Rhizoctonia solani.* (Formulation of cells of *Serratia liquefaciens* in alginate beads for the biological control of *Rhizoctonia solani*).

Mujica P., Ciampi, L., Schöbitz, R., Oyarzún, J. y Fuentes, R. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia Chile.

La cepa S 111 de *Serratia liquefaciens*, aislada de suelos chilenos y que controla biológicamente a *Rhizoctonia solani*, ha sido utilizada para ser formulada en cápsulas de alginato de sodio. El objetivo de este trabajo es determinar el tiempo óptimo de deshidratación de las cápsulas, mediante un seguimiento de la viabilidad de células de la cepa S111 almacenadas a temperatura ambiente. Durante cada una de las etapas de confección de las cápsulas, se determinó: a) la viabilidad celular mediante recuento en placas, b) la capacidad inhibitoria de la cepa S111 a cultivos de *R. solani*, y c) valores de osmomolaridad. Las cápsulas sometidas a tratamiento de deshidratación a diferentes tiempos y a temperatura ambiente se les determinó actividad de agua (Aw), materia seca y capacidad inhibitoria a *R. solani.* Resultados obtenidos permitieron determinar procesos de confección de cápsulas, tiempos de deshidratación, y relacionar valores de osmomolaridad con actividad de agua, estableciéndose que la Aw juega un rol importante en mantener la viabilidad celular de cápsulas y su estabilidad inhibitoria. Hasta el momento el mejor tiempo de deshidratación son 48 h. Adicionalmente se ha logrado concluir que la hidratación juega un rol fundamental en el éxito del control biológico, ya que la cápsula al absorber agua se multiplica y secreta al medio las sustancias que inhiben al hongo.

Proyecto financiado por FONDECYT 1951105

Microbiología en Bioprocesos

SINTESIS DE ANTIBIOTICOS β-LACTAMICOS CON PENICILINA ACILASA DE *BACILLUS MEGATERIUM* (Synthesis of b-lactam antibiotics with penicillin acylase from *Bacillus megaterium*)

Carolina Aguirre[1], Jaime Baeza[1], Andrés Illanes[2]. Laboratorio de Recursos Renovables, Universidad de Concepción[1]; Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso[2].

Penicilina acilasa (PA) es una enzima utilizada en la producción de ácido 6 amino penicilánico (6APA), precursor de antibióticos b-lactámicos semisintéticos. La enzima puede también realizar la reacción de síntesis de antibióticos β-lactámicos a partir de 6APA, o 7ADCA (ácido 7 amino desacetoxi cefalosporánico) y un donador de acilo. La PA de *Escherichia coli* ha sido ampliamente estudiada, no así la de *Bacillus megaterium*, a pesar de ser extracelular y no contener β-lactamasas contaminantes. Con la cepa *B.megaterium* ATCC 14945 se produjo 1600 UI/L de PA a las 27 horas de fermentación, con biomasa de 9 g/L y velocidad específica de crecimiento de 0.28 h^{-1}, en medio de hidrolizado de caseina y ácido fenilacético como inductor. La enzima se recuperó del caldo,se concentró por ultrafiltración y se purificó por cromatografía de exclusión molecular. La enzima tiene un peso molecular de 136 kD y actividad hidrolítica óptima entre 45 y 50ºC y pH 6.5 y 8. Se obtuvo valores de K_m de 0.57 ± 0.03 mM, 3.19 ± 0.36 mM y 7.76 ± 0.34 mM, y V_{max} de 74.6 ± 2.1, 46.7 ± 1.5 y 45.6 ± 0.8 mM/min, para penicilina G, cefalexina y ampicilina respectivamente. La PA de *B.megaterium* producida, al igual que la de *E.coli* inmovilizada en gel de poliacrilamida, sintetizó ampicilina y cefalexina a partir de ester metílico de fenilglicina y 6APA y 7ADCA respectivamente. Los rendimientos de síntesis con PA de *B.megaterium* fueron mayores que con la de *E.coli* en ambos casos: 21.3 y 14.5 % para ampicilina y 45.1 y 29.8 % para cefalexina. Redimiento y productividad de síntesis están siendo mejorados mediante el uso de cosolventes orgánicos.

EFECTO DESINFECTANTE DE ACIDO LACTICO (Disinfectant effect of lactic acid)

Luis López, José Romero y Fernando Ureta
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.Vicuña Mackenna 20. Santiago.

Se estudió la acción germicida de ácido láctico al 2%, producto que se presentan como otra alternativa para rebajar la contaminación microbiana superficial a nivel de industrias elaboradoras de alimentos. Se evaluó su eficacia germicida frente a microorganismos representativos de colección (ATCC), tales como *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa.* La efectividad del desinfectante, se evaluó realizando un estudio de la cinética de muerte de los microorganismos en pruebas *in vitro*, de acuerdo a la metodología recomendada por AOAC, a la concentración de uso recomendada (2%) y a diferentes tiempos de aplicación del producto, incluyendo el recomendado para efectos de desinfección (5 min). Los resultados se presentan como % de eficiencia germicida, velocidad específica de muerte (k) y tiempo de reducción decimal (TRD). De acuerdo a los resultados del estudio, a los 5 min de acción del producto, no se observó una diferencia significativa en la efectividad del producto frente a la totalidad de las cepas de colección ensayadas. Sólo se obtuvo un 99,999% de eficacia en el caso de *S. aureus*. De acuerdo a esto, no es posible establecer un patrón de resistencia diferenciable entre cepas Gram positivas y Gram negativas.

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD GERMICIDA DEL EXTRACTO DE SEMILLA DE TORONJA
(Evaluation of the germicidal activity of grape fruit seed extract)

José Romero, Luis López y Fernando Ureta
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Vicuña Mackenna 20. Santiago.

Se evaluó la actividad germicida del extracto de semilla de toronja, frente a microorganismos Gram positivos (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Streptococcus faecalis* ATCC 33186) y Gram negativos (*Escherichia coli* 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Se determinó la cinética de muerte para cada microorganismo a la concentración y tiempo indicado por el fabricante del producto, expresando los resultados como % de eficacia germicida, velocidad específica de muerte y tiempo de reducción decimal. Se realizaron además pruebas de la acción germicida en productos tales como cilantro, lechuga y frutilla. En las condiciones probadas se observó eficacias mayores a 99,999% sobre las cepas Gram positivas, mientras que para *E. coli* se alcanzó un 99,999% y para *Pseudomonas aeruginosa* que se presenta como la cepa más resistente, la eficacia fue de 99,99%. En las pruebas realizadas directamente sobre los productos, la acción germicida disminuye notablemente, alcanzándose como máximo una eficacia de 99,9% para cilantro y de 99% para lechuga y frutilla. Para alcanzar una mayor acción germicida en el tratamiento de productos hortícolas, convendría aumentar la concentración del desinfectante y su tiempo de acción.

ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL ACIDO KAURENOICO SOBRE *BACILLUS CEREUS* Y OTRAS CEPAS GRAM POSITIVO. (Bactericidal activity of kaurenoic acid on *Bacillus cereus* and other Gram positive strains).

Alarcón, C[1]., Mendoza, L[2]., Urzúa, A[3] y Wilkens, M[1].
[1]Departamento de Ciencias Biológicas,
[2]Departamento de Ciencias Químicas y
[3]Departamento de Química Aplicada; Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile, Casilla 40, Correo 33, Santiago, Chile.

Pseudognaphalium vira vira (Mol.) A. Anderb. es una planta de la medicina popular conocida como "bálsamo de la vida" o "hierba de la vida" usada contra resfríos, por sus características expectorantes, sudoríficas y antipiréticas, y como desinfectante de heridas. En la superficie de esta planta se secreta a través de tricomas glandulares un exudado resinoso, cuya función se ha asociado a un rol ecológico, ya que muchos de los compuestos constituyentes de esta resina tienen una función insecticida, antimicrobiana, antialimentaria o citotóxica. Uno de los componentes mayoritarios de la resina de *P. vira vira* es un diterpeno, el ácido kaurenoico. Se determinó la actividad antibacteriana del ácido kaurenoico, el que fue activo frente a bacterias Gram positivo (*Bacillus cereus, B. sutilis, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus y Clavibacter michiganiense* subsp. *michiganiense*), y no presentó actividad frente a bacterias Gram negativo (*Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi* B, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* y *Erwinia carotovora*). Frente a *B. cereus* el ácido kaurenoico mostró un MIC de 32 µg/mL en medio sólido y de 250 µg/mL en medio líquido. El ácido kaurenoico produjo una caída inmediata tanto de la densidad óptica como la viabilidad celular en *B. cereus*. Mediante observación al microscopio de las bacterias tratadas con el ácido kaurenoico y teñidas mediante Gram se comprobó la pérdida de la retención del colorante y lisis celular. Estos resultados sugieren que este compuesto podría estar actuando a nivel de peptidoglicán y/o membrana citoplasmática, produciendo la lisis bacteriana.
Financiado por los proyectos FONDECYT 2950048 y 1961241 y por DICYT- USACH.

ESTUDIO PRELIMINAR DEL COMPORTAMIENTO DE HONGOS DE PUDRICION BLANCA PARA DECOLORACION DE EFLUENTES. (Preliminary study of white-rot fungi behaviour for wastewater decolorization)

Maribel Parada[1], Gladys Vidal[2]
[1]Departamento. de Ciencias Básicas y Recursos Naturales. Fac. de Ciencias Agropecuarias y Forestales. [2]Depto de Ingeniería Química. Fac. de Ingeniería y Administración. Universidad de La Frontera. Casilla 54 - D. Fono/Fax: (45)250314. Temuco. E-mail: gvidal@werken.ufro.cl.

El auge de la empresa forestal en el último tiempo, ha traído como consecuencia el aumento de vertidos líquidos con un alto contenido de taninos, ligninas y compuestos recalcitrantes que presentan una gran coloración, y pueden provocar graves daños al medio ambiente al no ser tratados debidamente.
El objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento de *Phanerochaete chrysosporium* (Cepa 1) y *Trametes versicolor* (Cepa 2) en la decolorización de efluentes altamente coloreados.
Las características culturales de la Cepa 1 se manifiestan con un abundante micelio blanco en Agar Extracto de Malta al 2%, con una gran proliferación de conidias hialinas de base truncada. La Cepa 2 en cambio, no presenta conidias pero si abundante micelio en el cual se distinguen las fíbulas. Ambas cepas presentaron velocidades de desarrollo diferentes, la Cepa 1 presentó un cubrimiento del 100% de la placa Petri a los 4 días (9,2 cm de diámetro), y la Cepa 2 sólo presentó un desarrollo de un 36,7% en igual tiempo (3,4 cm de diámetro). En medio de cultivo diferencial (ácido tánico al 1%), los resultados preliminares indican que la cepa 1 no presenta producción de enzimas ligninolíticas. Sin embargo, la cepa 2 manifiesta claramente el desarrollo del halo café característico de la presencia de estas enzimas. En medio de cultivo líquido con concentración limitada de nitrógeno (temperatura 37ºC, agitación 150 rpm), la cepa 1 muestra un gran desarrollo en forma de esferas de color blanco, al igual que la cepa 2, la cual no produce una gran esporulación en el medio de cultivo y la velocidad de desarrollo es bastante menor que la cepa 1.
Este trabajo es financiado por el Proyecto FONDECYT 1970868.

USO DE CATALIZADORES EN LA BIOLIXIVIACION DE ENARGITA (The use of catalysts in the bioleaching of enargite)

Blanca Escobar, M. de los Angeles Ruiz y Jacques Wiertz.
Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Universidad de Chile. Casilla 2777, Samtiago, Chile

Estudios sobre biolixiviación de enargita (Cu_3AsS_4) a 30ºC en presencia de*Thiobacillus ferrooxidans* han mostrado un comportamiento altamente refractario de este mineral a la lixiviación. Con el objeto de mejorar estos resultados se desarrolló un estudio para determinar el efecto del ión plata y del ión bismuto como catalizadores en la lixiviación y biolixiviación de enargita. Se realizaron experiencias de biolixiviación con *Thiobacillus ferrooxidans* con y sin sulfato férrico; los resultados son comparados con experiencias de lixiviación en ausencia de bacterias. En todos los experimentos Ag desapareció de la solución al comienzo de la lixiviación, probablemente debido a la formación de sulfuro de plata, no representando un efecto tóxico a las bacterias, lo que se demostró por un buen desarrollo bacteriano en todos los experimentos. La catálisis de ión plata se demostró en los experimentos abióticos utilizando 0, 10, 30 y 50 ppm del ión en los medios de cultivo lo que dió como resultado 1.5, 12, 13.5 y 15% de recuperación de cobre respectivamente en 400 horas de lixiviación. En las experiencias de biolixiviación con sulfato férrico en presencia de las mismas concentraciones de ión plata, la disolución de enargita fue similar a la obtenida en ausencia de bacterias. Así el uso de bacterias sería interesante en este caso fundamentalmente por la regeneración de ión férrico. En los estudios de biolixiviación en presencia de ión bismuto, se utilizaron concentraciones de 10 y 20 ppm de este ión a partir de una solución de nitrato de bismuto. En estas experiencias el ión permaneció en solución durante todas las experiencias, causando un fuerte efecto tóxico sobre las bacterias, lo que dio como resultado que las biolixiviaciones se comportaran como experimentos estériles. Por otro lado, se demostró que el bismuto no cataliza la lixiviación de enargita.

Este trabajo se desarrolló en el marco del Proyecto Fondecyt 1950577.

UTILIZACION DE ANTIOXIDANTES EN LA DESNITRIFICACION (Antioxidants aid in denitrification process)

Gonzalo Ruiz F., Rolando Chamy M., Germán Aroca A. y Aldo Leal E.
Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso
Av. General Cruz Nº 34, Valparaíso, Chile. Fax: +56-32-273803. E-mail: rchamy@ucv.cl

Tradicionalmente los sistemas de tratamiento de aguas residuales han estado enfocados a la eliminación de materia orgánica, sin embargo, las nuevas tendencias han llevado al desarrollo y utilización de nuevas tecnologías para la eliminación de nutrientes; dentro de los cuales el nitrógeno es uno de los más importantes. En el proceso de nitrificación-desnitrificación el amoniaco es transformado en nitrito y nitrato en una etapa aerobia. En una segunda etapa anóxica el nitrato es transformado en nitrógeno molecular. Este último proceso lo llevan a cabo bacterias aerobias facultativas que coexisten junto a bacterias anaerobias metanogénicas, que en ausencia de oxigeno utilizan el nitrato como aceptor final de electrones. En este proceso, es deseable alimentar el reactor con nitratos, ya que con nitritos la actividad desnitrificante de los microorganismos disminuye. En este trabajo se estudia la utilización de agentes antioxidantes, para disminuir la posible acción de radicales libres que pueden producirse en la cadena de metabolización del nitrato, de este modo se espera aumentar la actividad desnitrificante cuando el reactor es alimentado con nitritos. Los resultados preliminares indican que es posible aumentar la actividad desnitrificante al menos en un 20%. También se espera lograr eliminar el efecto inhibitorio entre los procesos de desnitrificación y metanización, causada posiblemente por la presencia de radicales libres.

De este modo, se podría metanizar y desnitrificar en un mismo reactor, el que eventualmente puede ser alimentado con nitritos en vez de nitratos. Esto significaría un ahorro significativo en el proceso, por cuanto se podría: 1) nitrificar sólo hasta nitritos, disminuyendo el requerimiento de oxígeno en el proceso de nitrificación, 2) alimentar el reactor de desnitrificación con nitritos, manteniendo una alta actividad desnitrificante y 3) se podría utilizar un sólo reactor para desnitrificar y metanizar.

BIODEGRADACION ANAEROBIA DE MOLECULAS AROMATICAS (Anaerobic biodegradation of aromatic compounds)

Pablo Araya K., Rolando Chamy M.
Escuela de Ingeniería Bioquímica. Universidad Católica de Valparaíso

A pesar de existir mucha información en relación a la degradación bilógica de sustratos complejas de alto peso molecular, son muy pocos los microorganismos que se han utilizado en experiencias que involucran la degradación de moléculas aromáticas. Entre ellos los utilizados con kmás frecuencia son microorganismos aerobios como los hongos filamentosos y las bacterias del tipo *Pseudomonas putida*. El objetivo del trabajo fue investigar la capacidad biodegradativa de poblaciones simbióticas de bacterias anaerobias, para utilizarlas en el tratamiento de los efluentes de la industria química. Se operó un reactor anaerobio tipo UASB con un efluente de industria química que presentara moléculas aromáticas en su composición. De esta forma durante 8 meses se llevó a cabo una operación continua del reactor, la cual consideró graduales aumentos en la carga de alimentación para verificar la máxima capacidad degradativa de la biomasa utilizada. Los resultados obtenidos demuestran que luego de una etapa de adaptación, las bacterias anaerobias fueron capaces de biodegradar hasta un 75% de las moléculas presentes en la alimentación. Después de 8 meses de operación, la biomasa anaerobia perdió sólo un 3% de su actividad inicial. Analizando la cinética de degradación de esta clase de lodos anaerobios y los resultados experimentales, se comprueba la dependencia de cada población a la simbiosis que se establece durante el proceso, surgiendo como conclusión que la adaptación de esta clase de poblaciones anaerobias a la utilización de sustratos aromáticos como fuente de carbono es totalmente dependiente de dicha simbiosis. Se demuestra que la degradación de sustratos aromáticos es viable por esta clase de bacterias y se propone una línea de investigación y optimización de parámetros operacionales basados en la profundización del conocimiento de la microbiología de los microorganismos involucrados en el proceso.

Esta investigación contó con el financiamiento de BASF Chile S. A.

MODELACION Y OBTENCION DE PARAMETROS CINETICOS DE TRATAMIENTOS ANAEROBIOS DE RESIDUOS (Modelation and kinetics parameters determination of anaerobic wastewater treatments)

Jorge Lobos B., Rolando Chamy M., Germán Aroca A. Escuela de Ingeniería Bioquímica. Universidad Católica de Valparaíso. Av. General Cruz N° 34, Valparaíso, Chile. Fax: +56-32-273803 e-mail: rchamy@ucv.cl

La digestión anaerobia es un proceso muy complejo en donde participan varios grupos bacterianos actuando simbióticamente, por lo cual su modelación pese a ser muy necesaria, ha sido algo dificil de lograre. El objetivo de este trabajo es presentar un modelo de digestión de tipo cinético, el cual toma en cuenta las relaciones celulares de las principales poblaciones bacterianas involucradas y la cinética particular de cada una de estas poblaciones, apareciendo como parámetros fundamentales las diversas constantes cinéticas de las poblaciones (rendimientos celulares, velocidades especificas de crecimiento y constantes de afinidad). En el modelo desarrollado se han identificado cinco poblaciones bacterianas: fermentativa de monomeros, acetogenica consumidora de ácido butirico, acetogénica consumidora de ácido propionico, metanogénica consumidora de acético, metanogénica consumidora de hidrógeno y anhidrido carbónico. Las cinéticas celulares de la población fermentativa, acetogénicas y la metanogénica consumidora de hidrogeno y anhídrido carbonico, han sido modelado como del tipo Monod. La cinética de la población metanogenica consumidora de acetato se ha modelado considerando una inhibición por altas concentraciones de sustrato. Por lo que su cinética de consumo de sustrato incluirá también esta inhibición. De esta forma la medición de la velocidad inicial de reacción a diferentes concentraciones del sustrato respectivo de la población, permitirá la generación de los datos necesarios para la obtención de la velocidad especifica de crecimiento y la constante de afinidad. No obstante es recomendable linealizar la ecuación de velocidad a través de métodos como el de Lineweaver-Burke o de Hanes, y luego calcular los parámetros a través de la evaluación de las pendientes o interceptos de las rectas resultantes, según corresponda. En el caso de la población metanogénica consumidora de ácido acético se deberán hacer mediciones a altas concentraciones de sustratos para determinar la constante de inhibición y a bajas concentraciones a fin de evaluar la constante de afinidad.

EFECTO DEL PH Y CARGA ORGANICA DE EFLUENTES PESQUEROS EN EL CRECIMIENTO DE BIOPELICULAS DE BACTERIAS METANOGENICAS SOBRE SOPORTES UTILIZADOS EN FERMENTADORES DE BIOMASA RETENIDA. (Effect of pH and organic load of fish processing effluents on the growth of biofilms of methanogenic bacteria on supports utilized in fermentors with retained biomass)

Urrutia.H (*), Vidal R., Baeza M., Aspé E. (**)
(*) Dpto Microbiología, Fac. Ciencias Biológicas, Univesidad de Concepción
(**) Dpto. Ing. Química, Fac. Ingeniería, Universidad de Concepción

La presencia de sulfatos en efluentes pesqueros estimula particularmente la actividad de bacterias reductoras de sulfato durante el proceso de digestión anaeróbica de estos vertidos. La exacerbada actividad de estas bacterias limita la producción de metano al competir por algunos sustratos comunes (H_2 y Acetato) con las bacterias metanogénicas. Considerando que la eficiencia de la digestión mayor, cuando se utilizan reactores colonizados con biopelículas bacterianas, es necesario conocer los soportes y las condiciones ambientales que favorecen la formación de biopéliculas de bacterias metanogénicas que no utilizan sustratos comunes con las bacterias reductoras de sulfato (Ej: aminas metiladas). Este trabajo tubo por propósito conocer el efecto del pH y la concentraaón de materia orgánica (DQO) en la colonización de soportes por bacterias metanogénicas, acetotróficas, hidrogenotróficas y metilaminotróficas. Utilizando el módelo cinético Gompertz, se estudió, mediante recuperables y microscopía electrónica de barrido, la cinética de crecimiento de cada grupo bacteriano formando biopelículas sobre esferas de cerámica y poliuretano. Se encontró que cerámica y poliuretano favorecieron el crecimiento de bacterias metanogénicas, acetotróficas y metilaminotróficas y que el pH óptimo para el crecimiento de la comunidad adherida fluctuó entre 7 y 8, en tanto que el DQO (3.000 a 8.000 mg L^{-1} no tuvo un efecto significativo en el crecimiento de bacterias metanogénicas de los distintos grupos tróficos ensayados

(*)Financiado por FoNDEcYT 195 lOO 4

DEGRADACION DE 2,4,6-TRICLOROFENOL POR *Pseudomonas paucimobilis* S37 EN AUSENCIA DE CRECIMIENTO: EFECTO DE SUBSTRATOS DE FACIL METABOLIZACION.
(2,4,6-trichlorofenol degradation by non growing *Pseudomonas paucimobilis*: Effect of easily metabolizable substrates).

Carlos Aranda[1], Felix Godoy[1], Bernardo González[2] y Miguel Martínez[1].
[1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.
[2]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los compuestos carbonados de fácil metabolización pueden modificar las propiedades degradativas de la población bacteriana frente a clorofenoles. Por otro lado, en el ambiente, una proporción de las bacterias no están en activo crecimiento. Este estado se modifica esporádicamente cuando las condiciones del medio le son favorables. Sin embargo, en ausencia de un crecimiento activo, las bacterias podrían degradar diversos substratos, incluyendo compuestos clorofenólicos. En este trabajo se estudió el efecto de fuentes de carbono de fácil metabolización sobre la degradación de 2,4,6-triclorofenol por *Pseudomonas paucimobilis* S37 en ausencia de crecimiento. Esta cepa se aisló desde sedimentos del río Biobío y se cultivó en caldo R2A por 48 h, luego se inoculó en solución salina con 2,4,6-TCP (0,1mM) y adicionada con glucosa (0,01; 0,1; 1,0; 10 ó 100 mM) o fenilalanina (0,007; 0,067; 0,67; 6,7; ó 67 mM). Cada 24 h y durante 5 días, se midió la dehalogenación de 2,4,6-TCP, su degradación mediante espectroscopía UV (200-350 nm) y los recuentos viables de los cultivos. Los resultados demostraron que la adición de 0,1 mM de glucosa incrementó la dehalogenación y degradación del triclorofenol, pero concentraciones iguales o superiores a 1,0 mM de glucosa la inhibieron. Por otro lado, concentraciones iguales o superiores a 0,67 mM de fenilalanina, sólo inhibieron la degradación y dehalogenación del halofenol. En todas las condiciones experimentales no se observó un incremento de los recuentos viables en el cultivo. Se demostró que *P. paucimobilis*, en ausencia de crecimiento, tiene diferente capacidad degradativa frente a 2,4,6-TCP con concentraciones variables de glucosa o fenilalanina.

Financiado por FONDECYT Nº 1950909 y D. I. U de Concepción Nº 97.36.07-1.

EFECTO DE LA INANICION SOBRE LA DEGRADACION DE 2,4,6-TRICLOROFENOL POR *Pseudomonas paucimobilis* S37. (Starvation effect on 2,4,6-trichlorophenol degradation by *Pseudomonas paucimobilis* S37).

Félix Godoy[1], Carlos Aranda[1], Bernardo González[2] y Miguel Martinez[1].
[1]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.
[2]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El estudio de las capacidades degradativas de compuestos clorofenólicos por bacterias aisladas desde ambientes acuáticos, permite comprender los procesos autodepurativos que ocurren en ambientes contaminados por estos compuestos. En este trabajo se investigó la degradación de 2,4,6-triclorofenol (246-TCP) por *Pseudomonas paucimobilis* S37, aislada desde el río Biobío en un sector contaminado con compuestos clorofenólicos. Se estudió la capacidad para transformar 25, 50, 100, 200, 300, ó 400 µM de 2,4,6-TCP como única fuente de carbono, determinando cada 24 h y durante 7 días, la degradación de 246-TCP mediante espectroscopía UV (200 y 350 nm), la liberación de cloruro y la viabilidad bacteriana. Posteriormente, se investigó el efecto de la inanición sobre la degradación de 246-TCP. En este caso se adicionó 25 µM de 246-TCP después de incubar la cepas durante 0, 24, 48, y 72 h en medio salino K-sal, en ausencia de fuente de carbono. Los resultados demostraron que la capacidad degradativa de esta cepa fue mayor en presencia de 50 µM de 246-TCP y en ninguna de las condiciones ensayadas se observó crecimiento bacteriano. La capacidad para degradar 246-TCP, disminuyó con el tiempo de inanición de la célula. Estos resultados sugieren que la degradación de 246-TCP por *P. paucimobilis* S37 podría relacionarse con la presencia de sustancias de reserva.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1950909 y D.I. U. de Concepción Nº 97.36.04-1.ID.

INDICE DE AUTORES

AUTOR	Pg.
Acevedo F.	33
Aguilar R.	29
Aguirre C.	77
Alarcón C.	39, 79
Alexandre M.	72
Andrews E.	38
Aranda C.	82
Araneda P.	65
Araya P.	81
Arrieta A.	73
Balocchi M.	56
Bernal G.	76
Carú M.	38
Castillo A.	68
Céspedes S.	48
Cotoras D.	41
Cubillos A.	48
Dinamarca M.A.	29
Escobar B.	80
Espejo E.	55
Espinace R.	54
Espinoza J.C.	67
Espinoza M.	61
Fernández H.	46
Gambra M.	27
García A.	47
García R.	40
Gesche E.	71
Godoy F.	83
Guebauer M.T.	63, 73
Guerrero R.	23
Heim A.	37
Jeison D.	54
Leiva S.	51
Lobos J.	81
López C.	46
López L.	78
Lozano M.	22
Luchsinger V.	68
Martínez M.J.	28
Maulén N.P.	39
Mujica P.	76
Muñoz G.	36

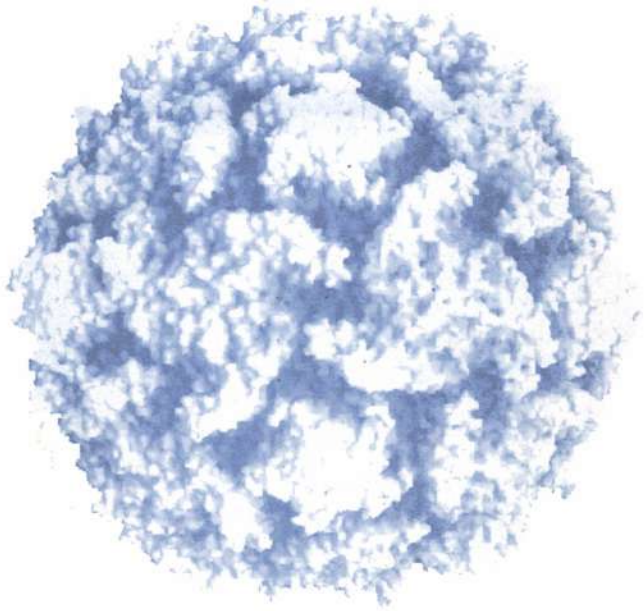
AUTOR	Pg.
Muñoz M.	42
Ojeda J.M.	69
Otth. L.	44
Oyarzún J.	75
Padilla C.	35
Palomino M.A.	44
Parada M.	63, 79
Pefaur R.	37
Piontelli E.	59
Puelle C.	67
Retamales P.	40
Riquelme C.	52
Rojas M.	55
Rojas M.V.	34
Romero J.	78
Ronda S.	72
Ruiz G.	80
Ruiz M.	47
Sepúlveda M.	49
Silva J.	36, 53, 57
Tejero A.	45
Toro C.	27
Trabulsi L.	21
Ulloa J.	49
Urrutia H.	82
Urzúa H.	53
Valderrama I.	56
Valenzuela E.	60
Varela C.	41
Vargas E.	66
Velásquez J.C.	61
Vera G.	66
Villalobos P.	28
Vinés E.D.	34
Wilson M.	45
Zahr M.	35
Zamora J.	43
Zaror L.	62

La Asociación Chilena de Microbiología y la Filial de la ACHM V Región agradecen el apoyo brindado al XIX Congreso Chileno de Microbiología a:

- **Hotelera Panamericana**
- **PV equip**
- **MERCK Chile**
- **DILACO Ltda.**
- **W. Reichmann y Cía Ltda.**
- **M.U.S. a. lab.**
- **IADET**
- **CORPORA TRES MONES S.A.**
- **Bio-Mérieux**
- **Equilab Ltda.**

ASOCIACION CHILENA DE MICROBIOLOGIA

1966



Virus Polio. Imagen Computacional

M&J
COMUNICACIONES LTDA.